Aus dem Robert Koch-Institut Berlin
Abteilung für Bakteriologie und Seuchenforschung
Direktor: Professor Dr. med. H. Raettig

TIERVERSUCHE ZUR INHALATIONSIMPFUNG MIT INAKTIVIERTEN S. TYPHI MURIUM-BAKTERIEN

INAUGURAL-DISSERTATION
zur
Erlangung der medizinischen Doktorwürde
an der
Medizinischen Fakultät der Freien Universität Berlin

vorgelegt von
Gunter Marwik
aus Berlin

1966

Aus dem Robert Koch-Institut Berlin

Abteilung für Bakteriologie und Seuchenforschung

Direktor: Prof. Dr. med H. RAETTIG

Tierversuche zur Inhalationsimpfung mit inaktivierten S. typhi murium-Bakterien

INAUGURAL - DISSERTATION

zur

Erlangung der medizinischen Doktorwürde

an der

Medizinischen Fakultät der Freien Universität Berlin

vorgelegt von

Gunter Marwik

aus Berlin.

Dekan: Professor Dr. med. Wilhelm M a ß h o f f

Referent: Professor Dr. med. Hansjürgen R a e t t i g

Korreferent: Professor Dr. med. Bernhard S c h m i d t

Gedruckt mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät der Freien Universität Berlin.

Promoviert am: 20. April 1966

INHALTSVERZEICHNIS

Seite

Einführung 1

Aufgabenstellung 6

Geschichtlicher Überblick 9

Material und Methoden 14

Impfstoff 14

Versuchstiere 14

Immunisierung 15

Impfstoffdosis 15

Infektion 16

Bestimmung der Tröpfchengröße 16

Ergebnisse 18

Mortalität 18

Summenkurven 19

Epidemiekurven 20

Impferfolg 25

Indexkurve 25

Zeitversuche 25

Absterbegeschwindigkeit 30

Wirkungsindex in Abhängigkeit von der Jahreszeit 33

Diskussion 34

Problem der Organimmunität 34

Erörterung der Abbildungen 35

Summenkurven 35

Epidemiekurven 36

Indexkurve 37

Zeitversuche 38

Absterbeordnung 38

Impferfolg in jahreszeitlicher Abhängigkeit 39

Konstitutionelle Seite des Entzündungsproblems 41

Verbleib des Antigens im Organismus 43

Kreislauf der Antigene 44

Terminologie der Impfverfahren 45

Antigenkreislauf und phasischer Impfschutz .. 47

Genetische Information der Zelle 48

Infektabwehr und Antikörpertiter 49

Synthese des Dualismus 51

Zusammenfassung 51

Schrifttum 52

EINFÜHRUNG

Die empirisch schon lange bekannte Tatsache einer Widerstandsfähigkeit gegen Zweitkrankheiten nach Überwindung einer Infektion oder nach dem Kontakt mit abgeschwächten Erregern bildete die Grundlage der ersten Schutzimpfungsversuche (JENNER gegen die Pocken und PASTEUR gegen die Tollwut). Erst durch die Versuche EHRLICHS (33), der Mäuse durch Verfütterung von Pflanzengiften zunehmend giftfest machte, wurde die Impfmethodik wissenschaftlich-experimentell aufgebaut. EHRLICH beeinflußte mit seiner Seitenkettentheorie entscheidend die späteren immunbiologischen Arbeiten, in denen besonders von BEHRING, PFEIFFER und BUCHNER den humoralen Mechanismus der Immunität beobachteten. Etwa zur gleichen Zeit stellte METSCHNIKOFF seine Phagocyten-Lehre auf, die mehr den zellulären Aspekt der Immunität betonte, der durch seinen Schüler BESREDKA mit dem Begriff der "lokalen Immunität" eine nicht mehr ausreichend begründete Überspitzung erfuhr (10).
Beide Richtungen, als "deutsche" und "französische" Schule in der Literatur bezeichnet (81), entwickelten sich in der Folgezeit unabhängig voneinander, wobei die deutsche Schule wegen des besseren theoretischen Unterbaues einen größeren Einfluß hatte. So war schließlich die theoretische Einstellung eines Untersuchers maßgebend für die Applikationsart des Impfstoffes. Die meisten Untersucher führten das Antigen parenteral zu, weil die Antikörperproduktion auf diesem Wege viel zuverlässiger einsetzte, während bei den sogenannten "lokalen" Impfmethoden häufig kein quantitativ korrelierender Antikörpertiter erreicht

wurde (84). EPSTEIN (35) spricht die Vermutung aus, daß der Widerstand gegen eine orale Impfmethode mit der häufig mangelhaften Antikörperbildung zu erklären sei. Er betonte aber auch, daß selten eine Parallelität zwischen Immunitätsgrad und Antikörpertiter zu beobachten sei.

Die Immunisierung über den Atemtrakt ist vergleichsweise selten experimentell bearbeitet und praktisch erprobt worden. Als Beweis können die relativ spärlichen Literaturangaben gelten, die etwa von der Jahrhundertwende bis in die letzten Jahre datieren, also erst etwa zehn Jahre nach den ersten experimentellen Untersuchungen über die orale Impfung durch Paul EHRLICH (33).

Eine bisher unwidersprochene immunologische Grundforderung lautet, die Immunität des Organismus möglichst so aufzubauen, wie sie nach Überwindung einer Infektionskrankheit meist zurückzubleiben pflegt. Sieht man also die Erkrankung als einen Modellfall an, so kann man die in der Natur beobachtete Infektion nachahmen, möglichst unter Vermeidung bedrohlicher Symptome einer manifesten Erkrankung.

Wenn man diese Grundforderung einmal akzeptiert, so kann man noch einen Schritt weitergehen. Dieser besteht darin, daß man nicht nur die Immunisierung der Infektionskrankheit durch einen parenteralen Antigendauerreiz der Impfstoffe nachzuahmen sucht, sondern auch den mutmaßlichen Weg des Erregers beachtet. Wenn der Impfstoff auf dem Wege eingeführt würde, den der virulente Keim gewöhnlich geht, so bedeutet das nichts anderes als eine Konsequenz aus einem "experimentum naturae" zu ziehen, wie es in der Infektion schon vorgezeichnet ist.

In der Human- und Veterinärmedizin werden die Erkrankungen des Atemtraktes neuerdings besonders von den Virologen stärker beachtet. Umso erstaunlicher ist es, wie wenige Autoren sich mit der Impfung über den Atemtrakt befaßt haben, obwohl die in der Literatur vorliegenden Arbeiten ausnahmslos positive Ergebnisse brachten. Vergleichende Tierexperimente von HOFFMANN hatten gezeigt, daß nach oraler, trachealer und rektaler Gabe des T_3-Phagen am sichersten und schnellsten dieses nicht vermehrungsfähige Modellvirus über den Respirationstrakt im Körper aufgenommen wird (47). Dieses unerwartet positive Ergebnis in Verbindung mit schon früher durchgeführten Infektions-, Resorptions- und Immunisierungsversuchen regten dazu an, zu prüfen, ob sich auch die weiße Maus über ein primär nicht empfängliches Organ gegen eine Breslau-Infektion immunisieren lasse.

Die Methodik der Immunisierung über den Atemtrakt umfaßt Instillationen von Antigensuspensionen, die Einsprühung in den Nasen- oder Rachenraum durch ein Gebläse oder die Tamponade der Nasenschleimhaut mit antigengetränkten Wollläppchen, um nur einige Beispiele aus früheren Versuchen anzuführen. Schließlich sind noch Einzel- oder auch Rauminhalationen möglich. Meine eigenen Versuche bedienten sich der Rauminhalation als relativ einfacher Methode, die den Vorteil massenstatistisch auswertbarer Versuchsergebnisse bietet, was mit der Einzelinhalation nicht ohne weiteres erreicht werden kann, obwohl hier wiederum die Dosierung erleichtert wird. Bei der Rauminhalation wird außerdem die physiologische Atemweise weitgehend beibehalten (106).

Mit der Benutzung der Atemwege zur Einbringung von Stoffen bedient man sich verschiedener Vorteile:

1. Die Stoffe können bei der Inhalation nicht durch Verdauungsfermente oder Darmbakterien verändert werden.
2. Die Größe der resorptiven Atemfläche, die beim Menschen über 100 m^2 beträgt, erlaubt im allgemeinen einen schnellen Übergang der Stoffe in die Blutbahn. Es kann somit, was die Schnelligkeit des Wirkungseintrittes betrifft, die Inhalation mit einer intravenösen Injektion verglichen werden (99).
3. Durch die Aufnahme von Stoffen über die Schleimhaut des Atemtraktes wird der Portalkreislauf und somit die Leberschranke umgangen (72).
4. Bei der Inhalationsimpfung wird nicht nur der Atemtrakt, sondern auch der Verdauungstrakt mit Antigenen angereichert (100), wodurch also eine größere resorptive Fläche als bei jeder anderen lokalen Impfmethode zur Verfügung steht.

Den Vorteilen der Inhalationsanwendung stehen nach HEUBNER (44) auch Nachteile gegenüber:

1. Relativ hoher und wechselnder Anteil der bei der Exspiration wieder entweichenden Aerosol-Menge, wodurch eine exakte Dosierung erschwert wird und gleichzeitig Medikamente verschwendet werden.
2. Zerstörung empfindlicher Stoffe durch den Zerstäubungsprozeß als solchen, wodurch wiederum eine Dosierung erschwert wird und Stoffe verloren gehen können.

Als entscheidender Vorteil bei der Benutzung der Atemwege zur Antigenzufuhr erscheint die große zur Verfügung

stehende Resorptionsfläche. Hier wird eine der Grundforderungen erfüllt, die man an alle Impfarten stellen muß, nämlich der Kontakt großer Zellmassen mit den antigen wirksamen Stoffen. Diese Voraussetzung ist bei anderen bekannten Impfmethoden nicht immer gegeben. So kann zum Beispiel bei der intramuskulären oder subkutanen Impfmethode der Impfstoff teilweise infolge auftretender Entzündungsvorgänge vom Gewebe gebunden und zerstört werden (KORNGOLD, 55). Bei der oralen Methode könnten in bestimmten Verdauungsphasen Fermente, die meist als Eiweißkörper vorliegenden Impfstoffe teilweise verändern oder unwirksam machen. So wird also bei der Inhalationsmethode der Nachteil der erschwerten Dosierung durch den Vorteil wieder aufgewogen, daß alle aufgenommenen antigen wirksamen Teilchen zur Resorption kommen, es sei denn, man rechnet den verschluckten Teil als Verlust, was aber durch erfolgreiche orale Immunisierungen widerlegt wurde (85). Diesen Vorteil hat die Inhalationsmethode mit der intravenösen Anwendung gemeinsam. Eine erfolgreiche Immunisierung setzt auch eine Empfänglichkeit des Wirtsorganismus für den pathogenen Keim voraus. Daher ist es auch wichtig, geeignete Infektionsmodelle zu benutzen, da bei ungeeigneten Versuchsanordnungen häufig zu Unrecht die Immunisierungsmethode angeschuldigt wird (84). Man muß umsomehr auf die bekannten Infektionskrankheiten bei Mensch und Tier zurückgreifen, als das Problem der primären Unempfänglichkeit eines Wirtes gegen bei anderen Organismen pathogene Keime noch als ungelöst anzusehen ist (113). Es gibt grundsätzlich zwei Möglichkeiten, den Impferfolg im Tierversuch zu prüfen. Man

kann einmal die Reaktion auf einen Infekt mit virulenten Keimen bei den immunisierten Tieren beurteilen, wobei am einfachsten die Mortalitätsrate bestimmt und mit der einer nicht behandelten Kontrollgruppe verglichen wird. Zum anderen kann man auch die Stärke der induzierten Antikörperbildung in vitro feststellen. In einer noch nicht veröffentlichten Arbeit hat TSCHOEPE auf nasalem, kutanem und oralem Wege Kaninchen mit inaktiviertem Impfstoff von S. typhi murium mit und ohne Zusatz von DMSO immunisiert. Dabei wurden die höchsten Antikörpertiter bei den nasal unter Zusatz von DMSO zum Impfstoff immunisierten Tieren erzielt (118). Während frühere Untersucher auf dem Gebiete der lokalen Immunisierung fast ausschließlich den zweiten Weg beschritten und sehr unterschiedliche Ergebnisse in bezug auf den Antikörpertiter erhielten, ist in der vorliegenden Untersuchung nur mit der Infektionsbelastung der immunisierten Tiere durch virulente Keime gearbeitet worden. Es wurden dabei auch Blut- und Organuntersuchungen (Leber, Milz und Herzblut) bei den gestorbenen Tieren auf S. typhi murium-Bakterien durchgeführt und außerdem bei den einzelnen Versuchen der mittlere Todestag bestimmt, um möglichst Tiere auszuscheiden, die an einer interkurrenten Infektion eingegangen waren. Das umfangreiche Untersuchungsmaterial von 2251 Mäusen erlaubt Zuverlässiges auszusagen.

AUFGABENSTELLUNG

Aktive und passive Schutzimpfung sind der Natur nachgebildet (42). Auch in der Anwendungsart der Antigene kann man eine Nachahmung des jeweiligen Infektionsmodus' erblicken. So

entsprechen die lokalen Impfmethoden den Schluck-, Kontakt-, Schmier- und Tröpfcheninfektionen, während die parenteralen Impfmethoden die Infektionen nach Hieb-, Stich-, Biß- und Schürfverletzungen nachzuahmen scheinen.
Die Seuchengeschichte lehrt, daß der erste, weitgehend schmerzlose und daher gefährlichere Infektionsweg der häufigere war. Aber auch in normalen Zeiten dürfte die größere Zahl der Infektionskrankheiten durch Eindringen der Erreger in den Körper über die Schleimhäute bzw. Lymphwege, hervorgerufen worden sein. Man würde, wie bereits in der Einführung bemerkt wurde, eine Nachahmung der Natur konsequent weiterführen, wenn man zur Infektionsprophylaxe die Immunität auf dem Wege erzeugte, den der jeweilige Erreger meist nimmt, um das Antigen mit dem primär empfänglichen Organ oder Gewebe in Kontakt zu bringen, zunächst unabhängig davon, ob man mit abgetöteten, abgeschwächten Erregern oder Toxoiden arbeitet. Nach dieser Voraussetzung sollte bei Tuberkulose, Ornithose und Milzbrand und bei allen Viruserkrankungen des Atemtraktes die Inhalationsimpfung vorgezogen werden. Die Infektionskrankheiten, die über die Darmschleimhaut in den Körper dringen wie Ruhr, Cholera, Typhus und Enteritis sollten zuerst durch orale Immunisierung bekämpft werden und schließlich würden sich die parenteralen Methoden den Wund- und Kriegsinfektionen durch Anaerobier wie Tetanus, Gasbrand und dann auch dem Tollwutvirus empfehlen. Alle diese Versuche sind teils im Tierversuch teils beim Menschen bereits durchgeführt worden (69).
In der vorliegenden Arbeit wird nun im Gegensatz zur Grundforderung die weiße Maus über ein Organ immunisiert, das

nicht primär empfänglich für eine Salmonelleninfektion ist. Allerdings werden bei dieser Immunisierungsmethode auch antigenwirksame Teilchen verschluckt, so daß die primär empfängliche Darmschleimhaut auch Berührung mit den Antigenen hat. So lautet die Fragestellung, ob diese Anwendungsart erfolgreich ist und gegen eine orale Sondeninfektion schützt. Eine weitere Frage wäre die nach der Resorption höhermolekularer Substanzen über die Schleimhäute.

Während REIN die Möglichkeit der Resorption von Eiweißkörpern über die Schleimhaut noch in Abrede stellte (91), konnten doch in letzter Zeit RAETTIG und HOFFMANN zeigen, daß Viren und Phagen wenige Minuten nach dem Kontakt mit der Schleimhaut von Versuchstieren in der Blutbahn nachgewiesen werden konnten. Auch VOLKHEIMER berichtete, daß die Darmschleimhäute Stoffe bis 95 μ Durchmesser passieren lassen (120). Es muß bei diesen Versuchen jedoch offen bleiben, ob bei der Anwendung mit bakteriellen Vollantigenen diese unverändert über die Schleimhäute aufgenommen werden oder nicht bereits vorher durch Zellen des RES entweder lysiert oder phagocytiert die Schleimhautschranke überwinden. Auch hier stellt sich die Frage nach der Rolle der Epithelzelle, ob sie selbst die Durchtrittspforte für die Antigene darstellt oder ob die Aufnahme lymphogen oder über die interzellulären Kittsubstanzen erfolgt. Die Lösung dieser Fragen sollte als vordringlich angesehen werden, zumal die Resorptionskinetik größerer Antigene, wie es die abgetöteten Salmonellen im Gegensatz zu den Phagen oder Viren sind, meines Wissens noch nicht publiziert worden ist.

GESCHICHTLICHER ÜBERBLICK

Die Atemwege zur Einbringung von Stoffen zu benutzen, ist eine alte Methode, die durch Untersuchungen SEHRWALDTS (109), HEUBNERS (43), SEEMANNS (107), DAUTREBANDES (24) und anderer wissenschaftlich begründet wurde. Es ist das Verdienst der Herausgeber des Zentralblattes für Biologische Aerosolforschung und Therapie, die physikalischen Fragen besonders beachtet zu haben. Nach der Jahrhundertwende arbeiteten KAPRALIK und von SCHROETTER mit Tuberkulin, das sie mit einem Inhalationsgerät vor allem Tuberkulosekranke einatmen ließen. Die Patienten reagierten nach der Inhalation in gleicher Weise wie nach Injektion des Präparates (52). Ähnliches berichteten CORNET und FRÄNKEL (21). 1905 fank FICKER, daß versprühte und inhalierte Erreger bei jungen Tieren leicht in die Blutbahn drangen, während ihm der Nachweis bei älteren Tieren nicht gelang (38). BLUMENTHAL (1908) zeigte, daß Diphtherietoxin Pferden intercostal, in die Trachea oder das Lungengewebe eingebracht, leicht in das Blut übertrat (13). 1910 untersuchte DZERZGOVSKY die aktive Immunisierung des Menschen gegen Diphtherie, indem er die Nasenöffnung mit Diphtherietoxin getränkten Wolläppchen tamponierte oder es durch Einsprühen von Toxin in die Nasenöffnung applizierte (31). 1911 berichtete SCHEWELEFF über eine erfolgreiche aktive Immunisierung von Hunden durch Injektion von Diphtherietoxin in Trachea oder Rachenraum (105). BESREDKA beschrieb 1920, daß das Blutserum in gleicher Weise und ebenso schnell reagiere unabhängig davon, ob man Eiweißstoffe direkt in den Kreislauf oder über die Luftwege einbringe. Er wies nach, daß sich Toxine und flüssige Gifte gleich verhielten und machte nur

Einschränkungen in bezug auf kolloidale Lösungen, besonders auch bei Bakteriensuspensionen. Er verglich die Lunge mit einem mit Poren versehenen Filter, bei dem die geringste Schädigung seine Funktion herabsetze oder ganz aufhebe (Behandlung der Tiere mit Gallensäuren). Im letzten Falle sei der Organismus auf seine "reine Abwehrkraft" angewiesen, die er als eine unveränderliche Größe bezeichnete, unabhängig davon, ob der Erreger intratracheal oder intravenös appliziert werde. Die gesamte Widerstandsfähigkeit eines Organismus beruht nach BESREDKA auf einem Zusammenwirken zwischen den natürlichen Schranken des Organismus (Schleimhaut des Verdauungstraktes, epitheliale Lungenschranke, Haut) und der "reinen Abwehrkraft" (9). PFENNINGER (1921) immunisierte tracheal Kaninchen gegen Paratyphus B und Bang und erzielte sehr unterschiedliche Ergebnisse bei der Antikörperbestimmung (77). BARLOW und BURNELL (1925) sprühten in den Pharynx von sieben Keimträgern ein antibakterielles Serum von einem Freiwilligen, der eine Reihe von Injektionen mit einer virulenten Diphtheriebakterienkultur erhalten hatte. Die Bakterien im Rachenabstrich verschwanden bei sechs von sieben Keimträgern (5). Im gleichen Jahr immunisierte SANARELLI kaninchen aktiv gegen Typhus, Cholera und Dysenterie, indem er den pulverartigen Impfstoff in die Nasenöffnungen der Tiere einblies. Er prüfte die Immunität der Tiere durch Bestimmung des Agglutinationstiters und durch intravenöse Injektionen tödlicher Dosen virulenter Keime. Er stellte auch fest, daß beim Menschen nach nasaler Immunisierung mit pulverförmigem Choleraimpfstoff nur ein geringer Agglutinationstiter nachzuweisen war (98).

1926 veröffentlichte EGUCHI im Robert Koch-Institut eine Arbeit, in der er über Infektion und Immunisierung junger und alter Mäuse und Meerschweinchen mit Pneumokokken und Streptokokken durch Fütterung und Inhalation berichtete, worin er auch eine Virulenzabschwächung pathogener Keime nach der Schleimhautpassage besonders bei alten Tieren nachgewiesen zu haben glaubte. Auch konnte er durch wiederholte Inhalationen genügend großer Mengen von abgetöteten Pneumokokken des Types I sowohl junge als auch alte Mäuse mindestens gegen die hundertfach tödliche Dosis virulenter Keime ziemlich regelmäßig schützen. Er bediente sich dabei einer Versuchsanordnung, wie sie von LANGE angegeben worden war, indem er den Tieren den Impfstoff mit einer Luftpumpe einblies (32). RAMON und ZOELLER (1927) konnten beim Menschen keine Immunität nach oraler Anwendung von Diphtherieantitoxin beobachten, aber sie erreichten eine positive Reaktion, wenn sie das Antitoxin auf die Nasenschleimhaut brachten oder den Kehlkopf damit besprühten. Sie berichteten auch, daß das Ergebnis mit diesen Methoden inkonstant war und eine größere Menge angewandt werden mußte im Vergleich zur subkutanen Injektion (89). MATSUDA (1929) konnte eine aktive oder passive Immunität erzielen, indem er Impfstoff (Typhus, Dysenterie) oder Antiseren (Typhus, Diphtherie u.a.) inhalieren ließ. Er schrieb auch über Schwierigkeiten bei der Bestimmung der notwendigen Antikörpermenge (62). WALSH und CANNON führten 1932 Untersuchungen über Gewebs- und Serumantikörper bei Kaninchen nach nasaler Antigenapplikation durch, indem sie mit formolinaktivierten Bakterien von S. paratyphi B

immunisierten (121). SILBERSCHMIDT (1934) schrieb über aktive oder passive Immunität durch Anwendung von Anatoxin (Diphtherie und Tetanus) oder Antiseren (Typhus und Diphtherie) mittels Inhalation. Auf Grund seiner guten Ergebnisse empfahl er die allgemeine praktische Anwendung (110). ISHIYAMA (1934) berichtete über ähnliche Erfahrungen, nachdem er Versuche über die pertracheale Anwendung des Impfstoffes des Streptokokkus hämolytikus gemacht hatte (50). MATSUMOTO und MIZUTANI (1934) sprühten mit einem Gummigebläse Kaninchen Typhusimpfstoff in den Nasen- oder Rachenraum und prüften die Immunität am Agglutinationstiter, wobei sie mit wesentlich geringeren Impfstoffdosen auskamen als bei der percutanen Anwendung. Als großen Vorteil der Inhalationsmethode beschrieben die Autoren das Fehlen unerwünschter Nebenwirkungen. Dabei erkannten sie den Schleimhäuten die Rolle von Barrieren oder Filtern gegen die Invasion der Nebenwirkungen hervorrufenden Agentien zu (66). DELLA VEDOVA immunisierte im gleichen Jahr Meerschweinchen mit Diphtherietoxin, wobei er das Antigen vergleichend subkutan und in die Nasenschleimhaut einspritzte. Bei den Tieren, die unter die Nasenschleimhaut injiziert wurden, konnte er eine erhöhte Immunität beobachten. Er vermutete, daß die Nasenschleimhaut eine größere Avidität für das Diphtherietoxin besitze (119). 1952 erklärte WOLTERS, daß sich die wissenschaftlichen Grundlagen für eine derartige Inhalationsimmunisierung aus den Kenntnissen über die Wirksamkeit der Depotstoffe ableiten würden. Dies habe CARLINFANTI im Tierversuch bestätigt (122). 1953 stellte RAUCH fest, daß

nach Inhalation eines BCG-Aerosols weder die KBR positiv wird, noch das später infizierte Tier generalisiert erkrankte. Entgegen den bisher geltenden Anschauungen durfte mit einer Immunität dieser Tiere gegenüber virulenten Tuberkelbakterien nicht gerechnet werden. Das nicht vorbehandelte, mit Tuberkelbakterienaufschwemmungen infizierte Kontrolltier zeigte schon makroskopisch ausgedehnte tuberkulöse Herde in den Organen des RES. Die Tbc-KBR war positiv (90). Später tauchten im russischen Schrifttum Untersuchungen über die Inhalationsimpfung auf. ALEXANDROW und Mitarbeiter berichteten 1959 über Versuche zur aerogenen Massenimpfung von Menschen gegen Anthrax (2, 3). 1960 versuchte van de LOO die Antikörperbildung nach aerogener Immunisierung histologisch zu lokalisieren. Dabei ließen sich im Bereich der intrapulmonalen Lymphfollikel wider Erwarten keine vermehrten Plasmazellen in Abhängigkeit von der Immunisierung nachweisen. Jedoch fand sich nach dem sechsten Tag eine deutliche Plasmazellvermehrung in der Submucosa der Bronchialschleimhaut. Verfasser kommt zu dem Schluß, daß die in den Alveolen aufgenommenen Bakterien in die Epithelien gelangen und dort in ihre antigen wirksamen Bestandteile zerlegt werden. In Anlehnung an EHRICHS "Genetische Theorie" der Antikörperbildung werden die Möglichkeiten der Aufnahme und Aufspaltung der inhalierten Antigene im Bronchialsystem und respiratorischen Parenchym vom Verfasser diskutiert (59). 1963 veröffentlichte RAETTIG erstmalig Untersuchungen zur Durchlässigkeit des Intestinaltraktes für Virus (82). HOFFMANN bestätigte die Ergebnisse und erweiterte die Methode, indem er die Resorptionsvirämie nach oraler, trachealer und rektaler Gabe

des T_3-Phagen untersuchte (47). Eine noch nicht veröffentlichte Arbeit von MEWES (67) mit radiomarkierten S. typhi murium-Bakterien konnte den Nachweis erbringen, daß auch Bakterien ohne weiteres die Schleimhaut des Magen-Darm-Traktes passieren und sich schon wenige Minuten nach Sondenfütterung im Blut nachweisen lassen. Eine Anreicherung von Isotopenantigen in der Parotis und in anderen Drüsen ließ die Vermutung einer Sekretion und erneuter Resorption aufkommen. Eine besondere Versuchsanordnung konnte einen Rhythmus bezüglich Aufnahme und Ausscheidung von Antigenen in der Blutbahn nachweisen, der durch die Feststellung eines Antigenkreislaufes durch RAETTIG (87) seine Erklärung fand. In ähnlicher Weise hatten schon SCHIESSLE und JUNG einen Calcium- und Jodkreislauf nach Untersuchung mit radioaktiven Stoffen postuliert (100).

MATERIAL UND METHODEN

Als Versuchstiere wurden ausschließlich NMRI-Mäuse (Naval Medical Research Institute) aus der Zucht des Robert Koch-Institutes verwendet. Das Gewicht der Tiere lag bei Versuchsbeginn im Durchschnitt bei 20 g. Die Tiere wurden zu je 30 Stück in Plastikkäfigen gehalten und bekamen Trockenfutter "Altromin" und Leitungswasser. Die Kontrolltiere lebten unter den gleichen Versuchsbedingungen.

Als Impfstoff verwendete ich drei Stämme von S. typhi murium (4143, 4144 und 6228). Die Bakterienkultur wurde nach 24-stündiger Bebrütung bei 37° C von Agarschalen mit phosphatgepufferter physiologischer Kochsalzlösung abgeschwemmt (p_H = 7,2) und in einem Thermostaten bei 60° C 75 Minuten lang inaktiviert. Die Sterilität der Impfstoffe wurde durch Nährbodenausstriche geprüft.

Zur Immunisierung wurden jeweils 30 Tiere eine Stunde lang in einen Blechbehälter, der sonst zur sterilen Aufzucht von Küken diente, gesetzt und einem Sprühnebel des Impfstoffes eine Stunde lang ausgesetzt. Der Sprühnebel wurde durch einen elektrischen Kompressor erzeugt, der mit einem Überdruck von 0,5 atü arbeitete und an den ein Schlauchsystem mit einer Düse angeschlossen war. Der Kompressor lief 30 Minuten während der Verneblung und wurde danach abgeschaltet. Die Tiere blieben insgesamt eine Stunde im Käfig. Die Immunisierungen erfolgten zehnmal jeden zweiten Tag. Sie wurden von den Tieren gut vertragen.

Zur Feststellung der Impfstoffdosis wurde eine Berechnung der vermutlich maximal aufgenommenen Antigenmenge nach einer vereinfachten Formel, die von BOLOTOVSKII nach einer Differentialgleichung abgeleitet wurde (14), durchgeführt.

$$x = f \cdot V/L$$

x = Gesamtgewicht der Tropfen in der Kammer

f = Durchschnittswert der erzeugten Konzentration des Sprays (g/min) = 15 g in 30 min

V = Kammervolumen (in Liter) = 56 l

L = Leistung des Kompressors (l/min) = 15 l/min

$$x = \frac{0{,}5 \text{ g/min} \cdot 56 \text{ l}}{15 \text{ l/min}} = 1{,}86 \text{ g oder } 0{,}032 \text{ g/l oder } 0{,}000'032 \text{ g/ml}$$

Atemvolumen der weißen Maus:

1,1 ml/min pro g Körpergewicht (nach ROSEBURY)

Es resultiert:

0,000'032 g/ml . 1,1 ml/min . 20 g Körpergewicht . 60 min. Expositionszeit = 0,42 g . 10 = 4,2 g oder ca. $4 \cdot 10^9$ inaktivierte Keime pro Maus während der 10maligen Antigenexposition.

Nach dieser Berechnung hat eine Maus 4 g Impfstoff oder $4 \cdot 10^9$ inaktivierte Keime während der gesamten Expositionszeit maximal inhaliert.

Es war nicht möglich, die Tiere während des Versuches daran zu hindern, auch Antigene oral durch Lecken oder Fressen aufzunehmen. Diese Schwierigkeit könnte man nur mit der Einzelinhalation bei fixiertem Tier umgehen. Die dabei zusätzlich aufgenommene Menge wird für unbedeutend gehalten.

Die Infektion erfolgte oral mit der Sonde mit 0,25 ml eines virulenten S. typhi murium-Stammes, wobei in einer ersten Versuchsreihe mit insgesamt 12 Einzelversuchen sämtliche Tiere (Immuntiere und Kontrollen) gleichzeitig infiziert wurden. Bei den Immuntieren lag die letzte Immunisierung zehn Tage zurück. In weiteren Versuchsreihen wurde die Zeit der Infektion nach Immunisierung variiert, und zwar wurde am letzten Immunisierungstag (nullter Tag), am fünften, zehnten, zwanzigsten und fünfzigsten Tag infiziert. Die Keimzahl der Infektion lag bei 10^9 Keimen pro ml.

Zur Abschätzung der Tröpfchendurchmesser des Sprays besprühte ich eine silikonisierte Thoma-Zeiss'sche Zählkammer, die als Objektträger diente. Ich hielt die Kammer in ca. 30 cm Entfernung von der Düsenöffnung, was etwa dem Abstand der Tierköpfe zu dem Vernebler entsprach und betrachtete sofort den Niederschlag im Mikroskop. Andere Autoren verwendeten ein Okularmikrometer zur Tröpfchengrößenbestimmung (14). Die kleinen und großen Quadrate wurden zur Größenabschätzung verwendet. Bei insgesamt 250 ausgezählten Tröpfchen entfielen 32 % auf den Durchmesser bis 10 μ, 41 % bis 50 μ, 19 % bis 100 μ, 7 % bis 300 μ und 1 % bis 700 μ. Nach Angaben von

HEYMANN und HIPPKE sind vergleichsweise die Tröpfchen bei einem Hustenstoß nie kleiner als 10 bis 20 μ, in der Regel liegen sie zwischen 100 und 500 μ und darüber (zit. bei LANGE, 56).

Die Kenntnis der Tröpfchendurchmesser ist wichtig für die Abschätzung der Eindringtiefe, besonders in die Lungenalveolen. Die Angaben in der Literatur schwanken etwas. Jedoch ist man allgemein der Auffassung, daß Tröpfchen unter 10 μ die Lungenalveolen beim Menschen noch erreichen können (28,43). Bei der Maus sind entsprechend kleinere Durchmesser erforderlich. Nach BUCKLAND (zit. bei BOLOTOVSKII) sinken Tröpfchen von 0,5 μ Radius in 29 % im Nasopharynx nieder; in 13 - 19 % in der Trachea, in 51 - 58 % in den Alveolen; mit einem Radius von 2 μ in 65 % im Nasopharynx und in 98 % bereits mit einem Radius von 4 μ (Werte bei Kaninchen). Untersuchungen bei der Maus ergaben ähnliche Verhältnisse, aber bei halb so großem Radius. Man kann also zusammenfassen: Das Eindringen der Aerosole in die Atemwege ist von ihrer Teilchengröße, das Verhalten der inhalierten Partikel in der Lunge aber von der Art der Lösung (echte und kolloidale Lösungen, Suspensionen und Emulsionen) außerdem vom Zustand des Lungengewebes (gesund, krankhaft verändert) abhängig (60). Man kann daher für die Versuchstiere der vorliegenden Untersuchungen aussagen, daß die Alveolen nicht von Antigenen erreicht wurden, sondern der größte Teil des inhalierten Sprühnebels sich im Nasen-Rachen-Raum abgesetzt haben muß und dort resorbiert oder auch verschluckt wurde und danach in den Verdauungstrakt gelangte.

ERGEBNISSE

An einem Tiermaterial von insgesamt 2251 Mäusen wird gezeigt, daß es möglich ist, die weiße Maus partiell gegen eine Infektion mit S. typhi murium durch eine Inhalationsimpfung zu schützen. Damit werden die wenigen Angaben in der Literatur bestätigt, daß eine Immunisierung über den Atemtrakt grundsätzlich möglich ist. Im Gegensatz zu anderen Untersuchern, die meist mit serologischen, zum Teil auch mit histologischen Methoden (59) den Impferfolg feststellten, arbeitete ich ausschließlich mit der Infektionsbelastung. Wegen der Unsicherheit der klinischen und hämatologischen Symptome einer Infektionskrankheit bei der weißen Maus und ihrer nicht immer gegebenen Korrelation zu der Schwere des Krankheitsbildes (84), orientierte ich mich vor allem an den Sterbefällen in einem Zeitraum von 30 Tagen und setzte sie in Beziehung zu der Todesrate einer nicht geimpften Kontrollgruppe.

Die Differenz der Mortalität zwischen beiden Gruppen wurde als Ausdruck des Impferfolges gewertet und konnte statistisch gesichert werden. Die prozentuale Sterblichkeit am Ende aller Einzelversuche ist in Tabelle 1, Spalte 5 und 9 eingetragen. Der Wirkungsindex $\frac{(b-a) \cdot 100}{b}$ steht in Spalte 11. Hiernach liegt in allen Versuchen die Sterblichkeit der Kontrolltiere höher als die der Immuntiere. Bei einem Wirkungsindex von durchschnittlich 47, wobei ein Maximum von 69,2 einem Minimum von 23,1 gegenübersteht, kann man sagen, daß die Sterblichkeit der immunisierten Tiere um fast die Hälfte im Vergleich zu der der Kontrollen herabgesetzt werden konnte. Diese Zahlenwerte sind statistisch nach der Methode von KOLLER gesichert worden (54):

Die höchstzulässige Zufallsdifferenz D_z = 8,3 % ist der beobachteten Differenz zwischen den Mortalitätswerten D_b = 19,5 % gegenübergestellt worden. Dabei repräsentiert der Quotient beider Werte (E) den Grad der statistischen Echtheit, sobald er über 1 liegt. Die Zusammenfassung aller Einzelversuche zeigt den Echtheitsgrad von 2,3 an, der als hoch anzusprechen ist.

Bei den gestorbenen Tieren wurden Untersuchungen von Leber, Milz und Herzblut auf S. typhi murium-Bakterien durchgeführt, die stets positive Ergebnisse zeigten. In Verbindung damit wurde der mittlere Sterbetag berechnet, wodurch eine interkurrente Infektion mit anderen pathogenen Keimen als wenig wahrscheinlich anzusehen war. Beim Vergleich der Mortalität beider Tiergruppen habe ich einmal den Verlauf als Summenkurven dargestellt (Abb. 1), zum anderen habe ich die tägliche Sterberate, auf die Gesamtzahl der Versuchstiere berechnet, in einer Kurve gezeichnet, die besser geeignet ist, den Charakter des Infektionsverlaufes zu analysieren (Abb. 2).

Auf den Summenkurven in Abbildung 1 beträgt die Mortalität am 30. Tag nach Infektion, entsprechend Tabelle 1 unten, bei den immunisierten Tieren 25,9 % und bei den Kontrollen 45,4 %. Man erkennt weiter, daß der Abstand der Mortalitätskurve der Impftiere zur Abszisse einerseits und der der Kontrolltiere andererseits, der am Versuchsende durch das Zahlenverhältnis 1 : 1,9 gekennzeichnet ist, erst am fünften Tag erreicht wird. Während am 1. Tag noch keine Sterbefälle in beiden Populationen zu verzeichnen waren und daher beide Kurven noch gemeinsam verlaufen, ist die Mortalität am 2. Tag bei den

Immuntieren geringfügig besser, um am 3. und 4. Tag im Abstand noch größer zu werden (Zahlenverhältnis 1 : 1,5). Am 8. Tag wird der Abstand des 30. Tages mit 1 : 2,1 sogar noch übertroffen. Man kann einen nicht-linearen, leicht wellenförmigen Verlauf erkennen. (Siehe auch Tab. 2).
Auf weiteren Kurven habe ich die täglichen Sterbefälle aller Einzelversuche nach Infektion prozentual auf die Gesamtzahl der Tiere berechnet und vergleichend als Epidemiekurven gezeichnet (Abb. 2), um den Infektionsverlauf genauer zu zerlegen. Man erkennt eine Vorschwankung der Mortalität, mehrere Gipfel mit abfallender Tendenz und eine geringe Nachschwankung, die bei beiden Kurven bei vergleichsweiser Betrachtung einen auffallend parallelen Verlauf aufweisen, abgesehen davon, daß der Abstand ungleichmäßig ist, woraus man eine Diskontinuität des Impfschutzes folgern kann.

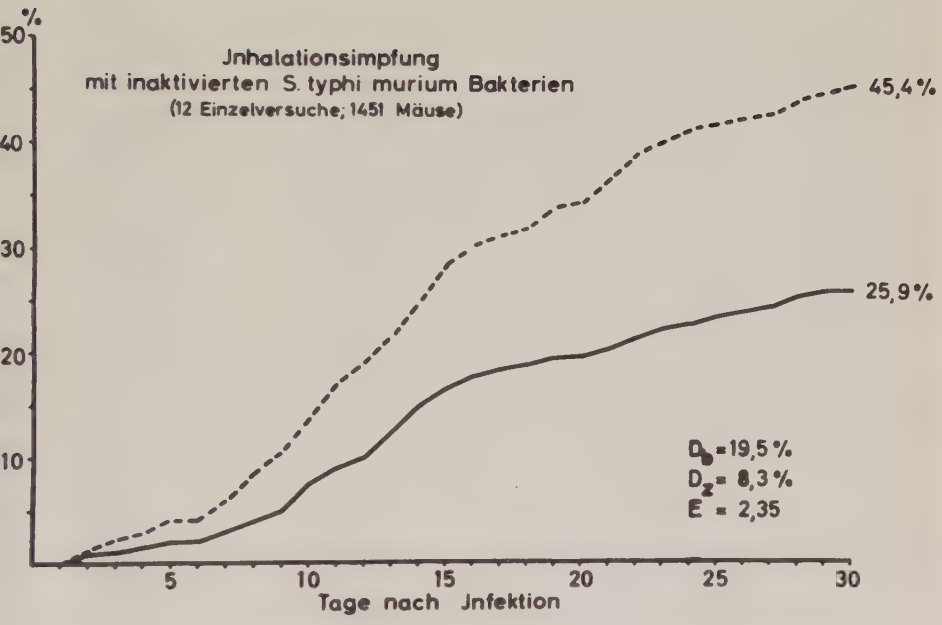

Abb. 1 Der Anstieg der Mortalität nach oraler Infektion mit S. typhi murium bei 960 inhalationsgeimpften Mäusen (ausgezogene Kurve) und 491 Kontrollmäusen (gestrichelte Kurve).

Tabelle 1. Zusammenfassung von 12 Grundversuchen der spezifischen Inhalationsimpfung von Mäusen gegen eine Infektion mit S. typhimurium-Bakterien

		Immunliere				Kontrolliere				
Versuch Nr.	Zeit des Versuches	Zahl der Mäuse	Zahl der Toten	Mortalität %	mittlerer Sterbetag	Zahl der Mäuse	Zahl der Toten	Mortalität %	mittlerer Sterbetag	Wirkungsindex *
1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11
1	Nov. 64	40	9	22,5	14,1	21	13	61,6	18,1	63,47
3	Jan. 65	120	24	20,0	17,0	30	10	33,3	14,0	39,93
4	Febr. 65	120	24	20,0	15,5	30	10	33,3	12,8	39,93
5	Febr./März 65	120	37	30,0	16,4	30	12	40,1	19,5	23,19
6	März 65	120	64	53,3	14,7	30	27	90,0	18,7	40,77
7	April 65	120	25	20,8	15,9	30	15	50,0	13,2	58,40
8	April 65	60	20	33,3	11,3	60	29	48,3	8,4	31,05
9	Mai/Juni 65	60	16	26,6	11,5	60	27	45,0	14,8	40,86
10	Juni 65	60	8	13,3	12,8	60	15	25,0	16,0	46,80
11	Juni/Juli 65	60	13	21,6	12,7	60	37	65,0	13,9	66,76
6a	Juli 66	40	5	12,5	13,8	40	13	32,5	16,0	61,23
7a	Sept. 66	40	4	10,0	15,2	40	13	32,5	16,6	69,23
	Summe**	960	249	25,9	14,2	491	223	45,4	15,2	47,57

* $\frac{(b-a)\cdot 100}{b}$ a = Mortalität der Immunliere b = Mortalität der Kontrollen

** Durchschnitt oder Summe

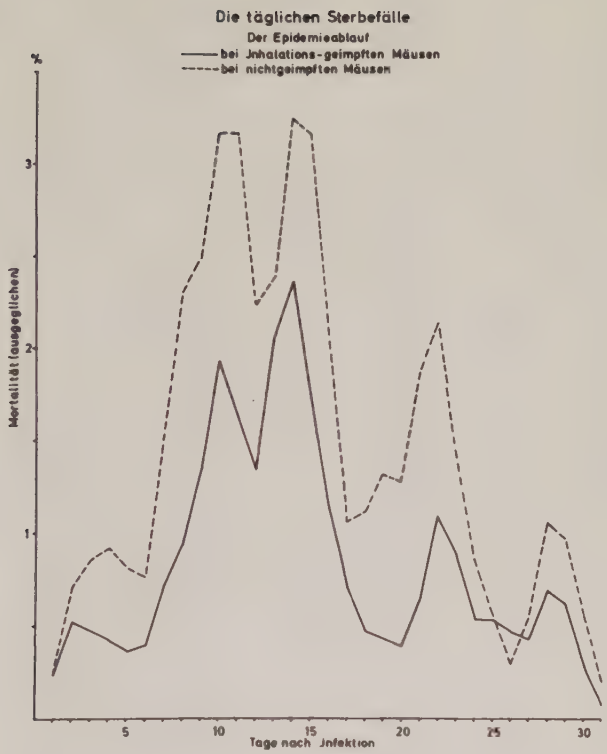
Die täglichen Sterbefälle
Der Epidemieablauf
bei Inhalations-geimpften Mäusen
bei nichtgeimpften Mäusen
%
Mortalität (ausgeglichen)
1
2
3
5
10
15
20
25
30
Tage nach Infektion

Abb. 2

Tabelle 2. Die täglichen Todesfälle der geimpften und nicht geimpften Herden nach erneuter Infektion mit S. hydrorrhagiae

Immunherde					Kontrollen			
Tag nach Infektion	Sterbefälle absolut	Mortalität 1/10 = 10%	Mortalität fortgelaufend	Anstieg der Mortalität Σ = %	Sterbefälle absolut	Mortalität 1/1 = 100%	Mortalität fortgelaufend	Anstieg der Mortalität Σ = %
1	2	3	4	5	6	7	8	9
1	0	0	2,25	0	0	0	1,25	0
2	9	0,94	5,0	0,94	5	1,02	3,50	1,02
3	2	0,23	4,5	1,17	4	0,81	4,25	1,83
4	5	0,52	4,0	1,69	4	0,81	4,50	2,64
5	4	0,42	3,5	2,11	6	1,21	4,00	3,85
6	1	0,10	3,75	2,21	0	0	3,75	3,85
7	9	0,94	7,0	3,15	9	1,82	7,75	5,67
8	9	0,94	9,0	4,09	13	2,65	11,25	8,32
9	9	0,94	13,0	5,03	10	2,02	12,25	10,34
10	25	2,60	18,5	7,63	16	3,25	15,50	13,59
11	15	1,56	15,25	9,19	20	4,07	15,50	17,66
12	6	0,63	13,0	9,82	6	1,21	11,00	18,87
13	25	2,60	20,0	12,42	12	2,43	11,75	21,30
14	24	2,50	22,25	14,92	17	3,46	16,00	24,76
15	16	1,65	16,75	16,57	18	3,66	15,50	28,42
16	11	1,13	11,25	17,70	9	1,82	10,00	30,24
17	7	0,72	7,0	18,42	4	0,81	5,25	31,06
18	3	0,31	4,75	18,73	4	0,81	5,50	31,86
19	6	0,63	4,25	19,36	10	2,02	6,50	33,88
20	2	0,23	3,75	19,59	2	0,46	6,25	34,34
21	5	0,52	6,25	20,11	11	2,23	9,25	36,57
22	13	1,34	10,0	21,46	13	2,64	10,50	39,21
23	9	0,94	8,5	22,40	5	1,02	7,00	40,23
24	3	0,31	5,25	22,71	5	1,02	4,25	41,25
25	6	0,63	5,25	23,34	2	0,46	2,75	41,71
26	6	0,63	4,59	23,34	2	0,46	1,50	42,17
27	0	0,0	4,25	23,97	0	0	2,75	42,17
28	11	1,14	6,75	25,11	9	1,82	5,25	43,99
29	5	0,52	6,0	25,63	3	0,61	4,75	44,60
30	3	0,31	2,75	25,94	4	0,81	2,75	45,41
31	0	0	0,75				1,00	
Summe / Durchschnitt	249	25,94	24,00	25,94	223	45,41	223,00	45,41

Ausgleich siehe Tab. 3

Es soll noch die Differenz beider Kurven als Ausdruck des Impferfolges betrachtet werden (Abb. 3). Setzt man die täglichen Todesfälle der geimpften Tiere = 100 und berechnet die der Kontrollen dazu, erhält man Zahlen (Tab. 3, Sp. 6), die gegen die Tage nach Infektion aufgetragen, den Impfschutz als eine Indexkurve veranschaulichen. In ihr wird der unterschiedliche Abstand von Abbildung 2 dargestellt, worin die Schwankungen des Impfschutzes zum Ausdruck kommen. In Übereinstimmung mit den Versuchsergebnissen nach oraler Immunisierung, erstmalig von RAETTIG beschrieben (84), kann man auch an dieser Kurve verschiedene Phasen ablesen: Eine erste Phase geringen Schutzes dauert bis zum 3. Tag; diese Phase wird durch eine zweite abgelöst, die zwischen dem 3. und 22. Tag liegt, an der mehrere Gipfel eines guten Schutzes vorliegen mit einem Höhepunkt am 20. Tag. Dazwischen liegen Täler geringen Schutzes. Am 25. - 27. Tag wird der Impfschutz durchbrochen. Eine dritte Phase zeigt zum Versuchsende noch einmal eine geringe Nachschwankung.

Bei den Zeitversuchen wurden die Tiere ebenso geimpft, jedoch wurde der Zeitpunkt der Infektion variiert. Die Infektion erfolgte einmal am letzten Inhalationstag, weiter am 5., 10., 20. und 50. Tag. Diese Versuche mit der Änderung des Infektionstermines sind in der Tabelle 5 und in Abbildung 4 dargestellt. Ich habe dabei den Wirkungsindex gegen die Tage aufgetragen. In dieser Kurve ist der Mittelwert aus zwei Versuchsreihen berechnet worden. Es zeigte sich, daß der Impfschutz um den 10. Tag nach der letzten Inhalation am höchsten ist. Die gestrichelte Linie markiert entsprechend der Zahl der Tiere den statistischen Streubereich,

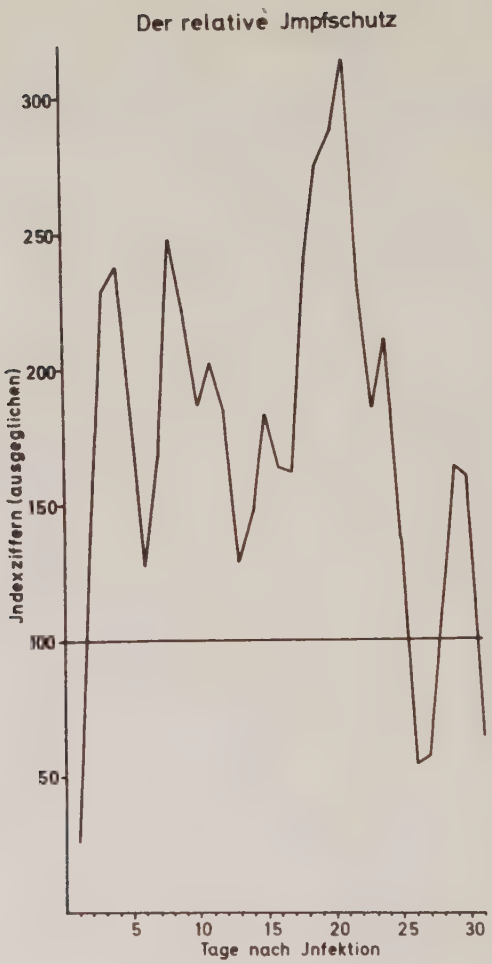

Abb. 3. Diese Kurve stellt Indexziffern dar, wobei die täglichen Todesfälle bei den geimpften Tieren = 100 gesetzt und die der Kontrollen dazu berechnet wurden.

Tabelle 3. Die täglichen Todesfälle der geimpften Tiere (%) = 100 gesetzt und Berechnung der Kontrollen dazu (Indexkurve)

	Immuntiere		Kontrolltiere		
Tag nach Infektion	Sterbefälle absolut (ausgeglichen)	Mortalität (ausgeglichen) 960 = 100%	Sterbefälle absolut (ausgeglichen)	Mortalität (ausgeglichen) 491 = 100%	Zahlen zur * Indexkurve (ausgeglichen)
1	2	3	4	5	6
1	2,25	0,23	1,25	0,25	26
2	6,0	0,62	3,50	0,71	140
3	4,5	0,47	4,25	0,86	228,5
4	4,0	0,42	4,50	0,92	238,25
5	3,5	0,36	4,0	0,81	183,5
6	3,75	0,39	3,75	0,76	120,75
7	7,0	0,72	7,75	1,58	167,5
8	9,0	0,94	11,25	2,30	248
9	13,0	1,34	12,25	2,49	218,75
10	18,5	1,93	15,50	3,17	186,25
11	15,25	1,62	15,50	3,17	202,25
12	13,0	1,34	11,0	2,24	184,5
13	20,0	2,06	11,75	2,39	129
14	22,25	2,37	16,0	3,25	148
15	16,75	1,74	15,50	3,17	183,25
16	11,25	1,16	10,0	2,06	164,5
17	7,0	0,72	5,25	1,06	162
18	4,75	0,48	5,50	1,12	238,75
19	4,25	0,43	6,50	1,32	275,25
20	3,75	0,39	6,25	1,28	286,75
21	6,25	0,65	9,25	1,88	312,5
22	10,0	1,10	10,50	2,14	231,75
23	8,5	0,88	7,0	1,42	185,25
24	5,25	0,54	4,25	0,86	209,75
25	5,25	0,54	2,75	0,56	137
26	4,5	0,47	1,50	0,30	54,75
27	4,25	0,43	2,75	0,56	58,25
28	6,25	0,70	5,25	1,06	109,25
29	6,0	0,62	4,75	0,97	164
30	2,75	0,29	2,75	0,56	160,25
31	0,75	0,07	1,0	0,20	65,5
Summe:	249,0	25,94	223,0	45,41	

Ausgleich: $b' = \frac{a + 2b + c}{4}$

b = das auszugleichende Glied
a = " vorangehende "
c = " nachfolgende "

* Die Zahlen zur Berechnung der Index-kurve wurden Tab. 2, Sp. 3 und 7 entnommen

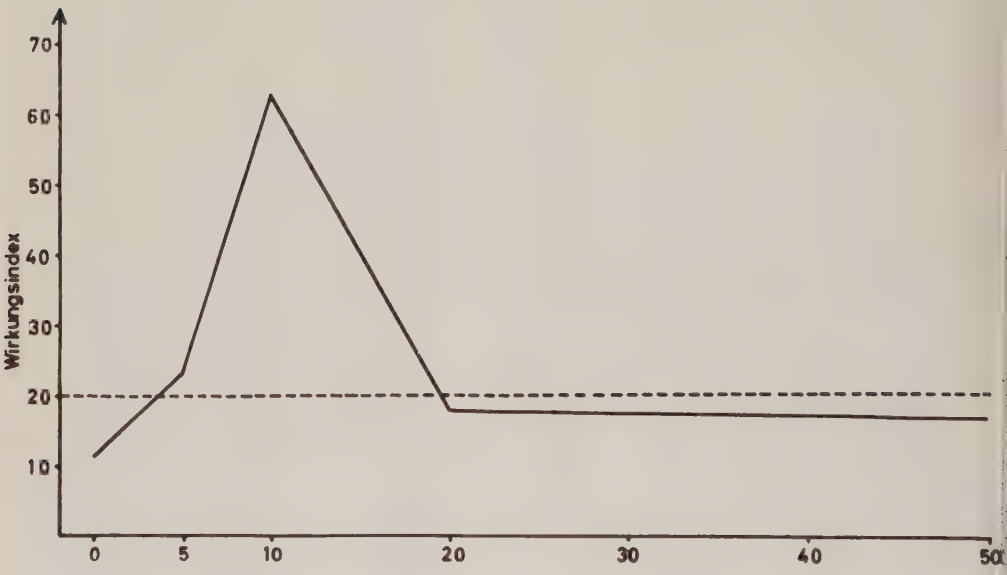

Abb. 4 Versuche mit verändertem Infektionstermin nach letzter Inhalationsimpfung. Auf der Grundlinie stehen die Tage der Infektion nach der letzten Impfung; auf der Ordinate ist der Wirkungsindex aufgetragen.

Tabelle 5. Zusammenfassung von 10 Versuchen mit verändertem Infektionstermin (Zeitversuche)

	Immunliere				Kontrolltiere						
Versuch Nr.	Zahl der Mäuse	Zahl der Toten	Mortalität % = a	Mittlerer Sterbetag	Zahl der Mäuse	Zahl der Toten	Mortalität % = b	Mittlerer Sterbetag	Tag der Infektion nach Immunisierung	Wirkungsindex *	Mittelwert der Wirkungsindices
1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
I a	40	21	52,5	12,4	40	18	45,0	10,2	0.	0	10,75
I b	40	9	22,5	13,6	40	10	25,0	20,7	5.	10,0	23,75
I c	40	5	12,5	13,8	40	13	32,5	16,0	10.	61,5	65,30
I d	40	7	17,5	12,1	40	8	18,0	13,3	20.	2,8	18,0
I e	40	5	12,5	27,2	40	7	17,5	24,8	50.	28,5	16,75
III a	40	11	27,5	13,5	40	14	35,0	14,2	0.	21,5	
III b	40	11	27,5	11,4	40	16	40,0	15,1	5.	31,5	
III c	40	4	10,0	15,2	40	13	32,5	16,5	10.	69,1	
III d	40	8	20,0	12,7	40	12	30,0	13,0	20.	33,2	
III e	40	8	20,0	16,7	40	8	20,0	12,7	50.	5,0	
Summe / durchschnitt	400	89	22,25	14,86	400	109	29,55	15,65		24,70	

* $\frac{(b-a)\cdot 100}{b}$

a = Mortalität der Immunliere
b = Mortalität der Kontrollen

so daß über die Werte unterhalb dieser Linie keine statistisch gesicherten Aussagen gemacht werden konnten.
Um die Absterbegeschwindigkeit zu veranschaulichen, habe ich in Abbildung 5 (Tab. 4) die tägliche Mortalität aller Einzelversuche auf die Endmortalität beider Tiergruppen bezogen. Die ausgezogene Kurve stellt die Mortalität der geimpften und die gestrichelte die der Kontrolltiere dar. Dabei erkennt man, wider Erwarten, daß die geimpften Tiere, soweit sie der Infektion erlagen, keine verlängerte Lebensdauer im Verhältnis zu den gestorbenen Kontrolltieren aufweisen. Diese Beobachtung stimmt mit der auf Tabelle 1, Spalte 6 und 10 angegebenen Berechnung der mittleren Sterbetage in beiden Versuchsgruppen gut überein, die keine signifikanten Abweichungen von den ganz unten aufgeführten mittleren Sterbetagen aus allen Versuchen aufweisen (14,2 bei den Immuntieren und 15,2 bei den Kontrollen). Als einziger Wert fällt der verkürzte mittlere Sterbetag der Kontrolltiere aus Versuch 8 vom April 1965 auf, wobei keine entsprechende Verkürzung in der Gruppe der Impftiere festzustellen ist. Rein rechnerisch scheint die Absterbegeschwindigkeit der geimpften Tiere sogar vergleichsweise etwas beschleunigt zu sein, was in Abbildung 5 an der leichten Verschiebung beider Kurven zwischen dem 1. und 5. und zwischen dem 13. und 19. Tag zu erkennen ist. Der Abstand ist allerdings zu gering, um eine verbindliche Aussage zu ermöglichen, da die Differenz noch im Zufallsbereich liegt.

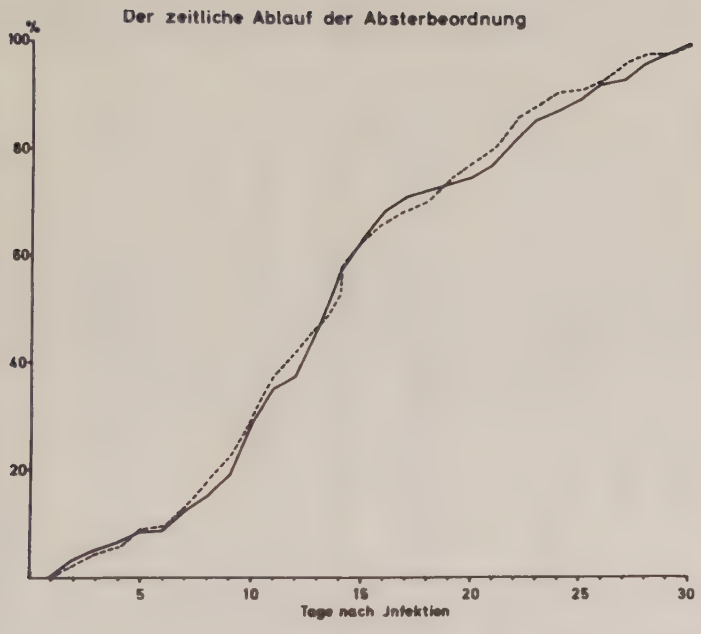

Abb. 5 Inhalationsgeimpfte Tiere (ausgezogene Kurve), Kontrolltiere (gestrichelte Kurve). Die Endmortalität in beiden Tiergruppen ist = 100 gesetzt.

Tabelle 4. Die Summe der täglichen Todesfälle auf die Endmortalität bezogen als Ausdruck der Absterbeordnung

	Immunisiere			Kontrollisiere		
Tag nach Infektion	Sterbefälle absolut	Mortalität 249 = 100%	Anstieg der Mortalität Σ %	Sterbefälle absolut	Mortalität 223 = 100%	Anstieg der Mortalität Σ %
1	2	3	4	5	6	7
1	0	0		0	0	
2	9	3,62	3,62	5	2,24	2,24
3	2	0,80	4,42	4	1,80	4,04
4	6	2,02	6,44	4	1,80	5,84
5	4	1,60	8,04	6	2,70	8,54
6	1	0,40	8,44	0	0	8,54
7	9	3,62	12,06	9	4,03	12,57
8	9	3,62	15,68	13	5,82	18,39
9	9	3,62	19,30	10	4,46	22,85
10	25	10,04	29,34	16	7,14	29,99
11	15	6,02	35,36	20	8,95	38,94
12	6	2,40	37,76	6	2,70	41,64
13	25	10,04	47,80	12	5,38	47,02
14	24	9,63	57,43	17	7,60	54,62
15	16	6,41	63,84	18	8,20	62,82
16	11	4,41	68,25	9	4,03	66,85
17	7	2,83	71,08	4	1,80	68,65
18	3	1,21	72,29	4	1,80	70,45
19	6	2,40	74,69	10	4,45	74,91
20	2	0,80	75,49	2	0,90	75,80
21	5	2,02	77,51	11	4,93	80,73
22	13	5,22	82,73	13	5,82	86,55
23	9	3,62	86,35	5	2,24	88,79
24	3	1,21	87,56	5	2,24	91,03
25	6	2,40	89,96	2	0,90	91,93
26	6	2,40	92,36	2	0,90	92,83
27	0	0,0	92,36	0	0	96,86
28	11	4,41	96,77	9	4,03	98,20
29	5	2,02	98,79	3	1,34	98,20
30	3	1,21	100,0	4	1,80	100,0
Summe:	249	100	100	223	100	100

Tabelle 6. Wirkungsindex * in Abhängigkeit von der Jahreszeit

4 Quartale 1964/65

I.		II.		III.		IV.	
Versuch Nr.	Wirkungs-index	Versuch Nr.	Wirkungs-index	Versuch-Nr.	Wirkungs-index	Versuch-Nr.	Wirkungs-index
3	39,93	7	68,40	11	66,76	1	63,47
4	39,93	8	31,05	I c	61,23	III d	33,33
5	23,19	9	40,86	III c	69,23		
6	40,77	10	46,80	III b	31,25		

* Siehe Tab. 1 unten

Der Wirkungsindex in Abhängigkeit von der Jahreszeit ist in Tabelle 6 eingetragen. Die Zahlen sind der Tabelle 1, Spalte 1, 2 und 11 und der Tabelle 5, Spalte 1 und 11 entnommen. Dabei wurde das Jahr in vier Quartale aufgeteilt. Ein jahreszeitliches Optimum läßt sich in drei Einzelversuchen im dritten Quartal nachweisen. Die Versuche zeigen also einen auffälligen Sommergipfel (Juli bis September), bei dem ein besserer Impfschutz vorliegt als in den übrigen Monaten. Diesem guten Effekt im Sommer steht eine relativ geringe Wirkung im I. Quartal (Januar bis März) gegenüber. Der Index im II. und IV. Quartal liegt im Durchschnittsbereich (Tab. 1, Sp. 11 unten).

DISKUSSION

Da die Lunge der weißen Maus nicht das für Salmonellen primär empfängliche Organ ist, überrascht das positive und statistisch signifikante Versuchsergebnis. Es scheint also grundsätzlich bei der lokalen Immunisierung möglich, einen Impfschutz über eine andere Eintrittspforte zu erreichen als der pathogene Keim gewöhnlich wählt. Man könnte bei oberflächlicher Betrachtung Rückschlüsse auf das Problem der Organimmunität (10) ziehen, da über die Atemwege immunisiert und über den Verdauungstrakt infiziert wurde. Dabei ließe sich folgern, es gebe bei der weißen Maus keine isolierte Organimmunität der Lunge gegen S. typhi murium bei der lokalen Immunisierung, weil an verschiedenen Orten geimpft und infiziert wurde und der gute Impferfolg auf eine allgemein gute Immunlage hinweist. Allerdings fehlt diesem Schluß die Beweiskraft. Bei der Inhalationsimmunisierung wird ein Teil des exhalierten Aerosols nicht mit der Atemluft nach außen abgegeben, sondern verschluckt. Ein weiterer Teil wird durch den Mund inhaliert, schlägt sich im Nasopharynxraum nieder und gelangt über den Oesophagus in den Verdauungstrakt. Inhalationsversuche mit radiomarkiertem Kalzium haben ergeben, daß etwa 50 % von eingeatmeten Stoffen ungefähr eine Stunde nach Inhalationsende im Magen-Darmtrakt nachgewiesen werden können (100). Wenngleich diese Versuche mit einem anorganischen Stoff durchgeführt wurden und der Dispersionsgrad des verwendeten Aerosols einheitlicher und feiner war, so halte ich grundsätzlich die dabei gewonnenen Versuchsergebnisse auf meine eigenen Untersuchungen mit Antigenen für übertragbar, da der Anteil des verschluckten Materials unabhängig

von Tröpfchengröße und Stoffcharakter des Inhalates sein dürfte. Man muß sich also darüber klar sein, daß die sogenannte Inhalationsimmunisierung stets eine gemischte Impfart ist, die die Antigene sowohl über den Atmungs- wie Verdauungstrakt dem Organismus zuführt. Eine reine Immunisierung über den Luftweg könnte man demnach nur durch Instillationen von Antigenen in die Trachea erreichen oder durch eine Inhalation unter Ligatur des Oesophagus oder einer anderen Methode zur Ausschaltung des Verdauungstraktes. Eine Reihe solcher Versuche sind im Schrifttum bereits beschrieben worden. Eine Versuchsanordnung, in der oral immunisiert und intraperitoneal infiziert wurde, ist bei SAFFRAN (97) angegeben. Die Ergebnisse zeigten einen guten Impfschutz, wobei also nicht der Darm allein, sondern zumindest die intraperitonealen Lymphknoten an der Immunität beteiligt sind. Bei dem zuletzt erwähnten Versuch läßt sich also eher aussagen, daß eine isolierte Organimmunität unwahrscheinlich ist.

Bei der Erörterung der Abbildungen ist zunächst der nicht lineare Anstieg beider Summenkurven beachtenswert, der auf einen diskontinuierlichen Verlauf der täglichen Sterbefälle in beiden Tiergruppen hinweist. Das Verhältnis der Mortalität zwischen Immuntieren und Kontrollen, wie es am Versuchsende am deutlichsten zu erkennen ist, wird erst am 5. Tag nach Infektion erreicht und am 8. Tag sogar übertroffen, wie es auch rein rechnerisch aus Tabelle 2, Spalte 5 und 9 zu ermitteln ist. Davor sterben relativ viele Immuntiere, jedoch weniger als nicht geimpfte Mäuse. Auch dieses Kurvenverhalten weist auf einen nicht gleichmäßigen Impfschutz hin.

Die Beobachtungen lassen sich noch eher in den Epidemiekurven (Abb. 2) verdeutlichen. Überraschenderweise kommt es hierbei nicht zu dem binomialen Muster einer Gauß'schen Verteilung, wie es bei einer Explosionsepidemie, die mit der raschen und gleichzeitigen Sondeninfektion aller Tiere nachgeahmt wurde, erwartet werden mußte. Statt dessen erkennt man eine Vorschwankung, mehrere Gipfel und eine Nachschwankung, die langsam abfällt, so daß die Kurve eher dem Verlauf einer Kontaktepidemie gleicht (79). Außerdem ist das gleichsinnige Verhalten beider Kurven in Abbildung 2, abgesehen von dem etwas variierenden Abstand, so bemerkenswert, daß ich exogene Ursachen, wie zum Beispiel die denkbare Beeinflussung der Mortalität durch Virulenzsteigerung und infolge wiederholter Kontaktinfektionen innerhalb einer Versuchspopulation als unwahrscheinlich ansehe. Jedenfalls scheint mir dieser Faktor, den man durch einzeln gehaltene Tiere ausschalten könnte, keine wesentliche Rolle zu spielen. Es würde sonst kaum zu dem Kurvenbild kommen, bei dem die Mortalität zweier getrennter Tiergruppen einen fast parallelen Verlauf hat. Vielmehr möchte ich vorwiegend endogene, also durch den Organismus selbst bedingte Gründe als Ursache des parallelen Kurvenverlaufs annehmen, zumal auch aus der großen Anzahl der Versuchstiere ein gesetzmäßiger Ablauf gefolgert werden kann. Würden exogene Gründe wie beispielsweise fortlaufende Superinfektionen durch Kontakt der Tiere untereinander oder eventuell auch die Virulenzsteigerung der Krankheitserreger als Erklärungsmöglichkeit herangezogen, was bei dem als Kontaktepidemie ausgebildeten Kurvenverlauf zunächst naheliegt, so wird damit ja nicht der eigenartig gleichsinnige Sterblich-

keitsverlauf zweier Versuchspopulationen erklärt, die voneinander völlig getrennt gehalten wurden. Vielmehr entspricht der Kurvenverlauf der ungeimpften Kontrollgruppe einer zyklisch verlaufenden Infektion (84), mit ganz gesetzmäßigem Ablauf, der vermutlich von der "reinen" Abwehrkraft und dem resorbierten und sezernierten Erreger des nichtimmunisierten Tieres abhängt. Diese "reine" Abwehrkraft bestimmt auch den Kurvenverlauf der Immuntiere analog dem der Kontrollen, nur daß der Impfschutz durch das tiefere Kurvenniveau oder auch durch den Abstand beider Kurven dargestellt wird. Ich komme auf diese Folgerung in anderem Zusammenhang weiter unten zurück.

Bei der graphischen Darstellung des Impfschutzes, wie er in der Indexkurve (Abb. 3) veranschaulicht wird, kommt es zu dem Bild ausgeprägter Gipfel und Täler, das die allgemeine Auffassung eines kontinuierlichen Impfschutzes nach erfolgreicher Immunisierung widerlegt. Dieses Ergebnis nach lokaler Immunisierung, ist im Schrifttum bereits beschrieben, wobei bei gleichem Infektionsmodell, jedoch verschiedener Impfung, ein phasischer Ablauf des Impfschutzes festgestellt wurde (84). Bei vergleichender Betrachtung fällt auf, daß bei meinen Versuchen die zweite Phase mit gutem Schutz bereits am 3. Tag einsetzt, also etwas früher als bei der von RAETTIG beschriebenen Kurve. Ein abfallender Trend kommt in meiner Abbildung nicht deutlich zur Darstellung. Bei der ersten Phase, die bis zum 3. Tag dauert, ist ein Ansteigen der Kurve zu erkennen, jedoch ist der Impfschutz nur gering ausgeprägt. In der zweiten Phase zwischen 3. und 24. Tag sind drei hohe Gipfel zu sehen. Schließlich ist in der dritten

Phase noch eine Nachschwankung ersichtlich, wobei der Impfschutz am 25. bis 27. Tag sogar verdeckt ist. Die geringe zeitliche Verschiebung bei sonst ähnlichem Kurvenverlauf führe ich auf eine unterschiedliche Resorptionszeit der Antigene zwischen aerogener und oraler Impfung zurück. Dabei scheint der Schutz nach der Inhalationsimpfung etwas früher einzusetzen.

Bei der Besprechung der Zeitversuche (Tab. 5, Abb. 4) ließ sich der beste Wirkungsindex am 10. Infektionstag nach letzter Immunisierung erzielen. Offensichtlich scheinen gleichzeitige Antigenzufuhr und Infektion vom Organismus schlecht vertragen zu werden. So lag zum Beispiel in Versuch Ia die Mortalität der Immuntiere höher als die der Kontrollen, als am letzten Inhalationstag infiziert wurde. Auch die Infektion am 50. Tag nach letzter Immunisierung zeigte nur einen geringen Wirkungsindex. Es wurden daher die Wirkungsindices aus zwei Versuchsreihen gemittelt und graphisch dargestellt. Dabei zeigt die gestrichelte, horizontal verlaufende Linie den statistischen Streubereich an.

Auch das gleiche Verhalten in den Kurven der Absterbeordnung (Abb. 5) wirft unerwartete Probleme auf. Die geimpften Tiere weisen, falls sie der Infektion erliegen, keine Verlängerung des mittleren Sterbetages auf: Die Absterbegeschwindigkeit unterscheidet sich in beiden Gruppen nur wenig. Der mittlere Sterbetag differiert nur gering um einen Tag. Eine leichte zeitliche Verschiebung am Anfang (1. - 5. Tag) zugunsten der Kontrolltiere ist in der Literatur bereits beschrieben worden (84). Hier ist der Unterschied zwischen beiden Kurven zu klein, um eine sichere Aussage zu ermöglichen.

Die annähernd gleiche Absterbegeschwindigkeit zwischen geimpften und nicht geimpften Tieren hängt mit der Parallelität der täglichen Sterbefälle in Abbildung 2 zusammen, wobei beide Gruppen die gleiche zyklische Infektion durchzumachen scheinen. Die gestorbenen Immuntiere wiesen dabei nur eine geringe Infektionsbelastbarkeit auf und verhielten sich wie nichtgeimpfte Tiere. Man kann hier an das Alles-oder-nichts-Gesetz denken: Das geimpfte Tier stirbt auf jeden Fall ohne Lebensverlängerung, sobald Impfung und reine Abwehrkraft keinen genügenden Schutz bieten. Ebenso verhält es sich mit den Kontrollen, nur daß hier die Infektabwehr allein durch die reine Abwehrkraft bestimmt wird.

Wenn ein Impferfolg in jahreszeitlicher Abhängigkeit zu bestehen scheint wie Tabelle 6 zeigt, sollte diese Beobachtung in längeren und umfangreicheren Untersuchungen gesichert werden. PRITCHETT (78) wies nach, daß nach oraler Infektion die Mortalität im Frühjahr und Herbst erhöht ist. Auch bei meinen Versuchsreihen hat die Mortalität der Kontrolltiere im März und November einen Gipfel von 90 % beziehungsweise 61,6 % bei einem relativ guten Wirkungsindex.

Es stellt sich die Frage, ob das Ergebnis noch wesentlich zu verbessern und aus dem partiellen Impfschutz eventuell noch ein absoluter zu machen sei. Diese Frage klingt zwar etwas spekulativ, ist aber berechtigt, wenn man Parallelversuche zur Beantwortung heranzieht: In anderen Versuchsreihen, bei denen die weiße Maus sowohl oral immunisiert als auch infiziert wurde, wo also das Antigen mit dem primär empfänglichen Organ in Berührung kam (84) ist das Ergebnis im Hinblick auf den Grad der statistischen Echtheit

zum Teil besser gewesen. Ein absoluter Schutz konnte jedoch auch hier nicht erreicht werden. Wie verhält es sich nun, wenn man die Impfstoffmenge steigert? Versuche in jüngster Zeit haben auch hier gezeigt, daß nicht die Höhe des Impfstofftiters, sondern die Häufigkeit der Impfanwendung und der entsprechende Impfrhythmus maßgebend sind (86). Es ist auch eine Erhöhung des Impfschutzes denkbar durch Verwendung gereinigter und konzentrierter Impfstoffe, jedoch ist andererseits die Fähigkeit der Körperzellen, Antikörper zu produzieren, nicht nur vom exogenen Reiz der Antigene abhängig, sondern auch ein Ergebnis der endogen wirkenden genetischen Information. Ähnliches gilt auch für die spezifischen und unspezifischen Reaktionen des zellulären Abwehrsystems. So wird es in einem Versuchskollektiv immer Individuen geben, bei denen eines der beiden oder beide Abwehrsysteme schwächer entwickelt sind und die trotz guten Antigenreizes eine nur gering belastbare Immunität ausbilden. Somit könnte das Problem der absoluten Immunität nur gelöst werden, wenn man auch die Frage nach der individuellen oder auch rasse- und arteigenen Beschaffenheit der Abwehrsysteme beantworten könnte. Das Problem läßt sich noch erweitern, wenn man den noch als ungelöst anzusehenden Fragenkreis der primären Unempfänglichkeit eines Organismus gegen für andere Organismen pathogene Keime miteinbeziehen würde. Ließe sich der Mechanismus der primären Unempfänglichkeit immunologisch oder chemisch aufklären, so wäre es erstrebenswert, nicht nur eine homologe Immunität zu erzeugen, sondern den Organismus so zu verändern, daß er möglichst gegen alle bekannten pathogenen Keime primär unempfänglich würde.

Da nach allgemeiner Auffassung bei der lokalen Immunisierung in erster Linie das phylogenetisch ältere zelluläre Abwehrsystem angeregt wird (113), soll auch jetzt der zelluläre Abwehrapparat stärker beachtet werden, da von einer Antikörperbestimmung zunächst einmal abgesehen wurde. Antikörpertiter und Infektionsschutz sind zwei Faktoren, die sich bei auffallend zahlreichen Versuchen und Beobachtungen nur wenig korrelieren lassen (EPSTEIN).

Grundsätzlich spielen sich beim Kontakt von Antigenen mit der Schleimhaut eines empfänglichen Organismus, die ziemlich gleichförmig verlaufenden, zuweilen etwas abgeschwächten Symptome einer Entzündung ab. ROESSLE hat sich mit der konstitutionellen Seite des Entzündungsproblems in verschiedenen Arbeiten auseinandergesetzt und dabei auch das Modell der Gewebstransplantation für die Entzündungslehre verwandt (92). Er hat dabei die stammesgeschichtliche Entwicklung und Bedeutung der Entzündung als erster aufgedeckt und beschrieben. So wissen wir seitdem, daß die Entzündung als Antwort des Organismus auf einen entzündlichen Reiz zuerst bei den Coelenteraten als vorwiegend zelluläres Ereignis abläuft. Mit der Entwicklung eines Kreislaufes kommt später auch eine humorale Beteiligung hinzu. So lassen sich auf der phylogenetischen Entwicklungsstufe der Weichtiere bereits Leukozyten nachweisen, die eine "Polizeifunktion" (nach METSCHNIKOFF) ausüben. Aber erst bei den Wirbeltieren ist eine Antikörperproduktion nachweisbar, die sich mit dem humoralen Abwehrsystem beim Menschen vergleichen läßt. So ist also das zelluläre Abwehrsystem entwicklungsgeschichtlich das primäre.

Bei Mensch und Tier laufen ja die klinisch und bakteriologisch-serologisch erfassbaren Erscheinungen einer Infektionskrankheit sehr eindrucksvoll ab. Diese Faszination über eine nicht zu übersehende Symptomatologie erklärt es auch, weshalb man den zellulären Aspekt der Immunität über Generationen so wenig beachtet hat, gerade auch, was die sessilen Abwehrelemente des Organismus (Makrophagen) angeht. Über eine rein morphologische Beschreibung ist man nur wenig hinausgelangt. Dennoch spielt dieses phylogenetisch alte Abwehrsystem eine sehr wichtige Rolle. Nicht zuletzt auch deshalb, weil sich die für die Antikörperproduktion verantwortlichen Zellen vermutlich von einer Stammzelle ableiten, die im RES beheimatet ist, und bei der der Lymphocyt eine Schlüsselstellung einnimmt (45). Die in jüngster Zeit in der Literatur beschriebenen hereditären Erkrankungen in den Abwehrfunktionen lassen die Bedeutung der Abwehrsysteme in einem neuen Licht erscheinen. NEZELOF beschrieb 1964 eine isolierte extreme Lymphopenie (71). Der Verlauf dieser seltenen Krankheit ist genauso maligne und kurzfristig wie die häufiger beobachtete Kombination des humoralen Antikörpermangelsyndromes mit einer Lymphopenie (HITZIG). Dagegen haben die Patienten mit dem reinen Antikörpermangelsyndrom (AMS) verschiedener Ursache eine ungleich bessere Prognose. Es scheint auch beim Fehlen oder Versagen eines des beiden Abwehrsysteme das andere kompensatorisch einspringen zu können, wie man auch eine Hyperleukozytose bei einer Agammaglobulinämie finden kann oder eine Hypergammaglobulinämie bei einer Agranulozytose (45). Dabei scheint der Organismus leichter einen Defekt am System der Antikörperbildung als am lymphozytären

Apparat kompensieren zu können, wenn man die Prognose verschiedener hereditärer Mangelzustände beider Abwehrsysteme vergleicht.

Als wichtige Frage muß noch die nach dem Verbleib des Antigens im Organismus aufgeworfen werden. Wenn Antigene oder Eiweißkörper den natürlichen Schutzwall des Körpers (Haut und Schleimhäute) durchdringen, so ist der Organismus bestrebt, sich auf verschiedene Weise dieser artfremden Stoffe (Bakterien, Toxine, Gifte) zu entledigen, indem er sich der spezifischen und unspezifischen Abwehrsysteme bedient. Der Mensch benutzt nun diesen Mechanismus zur künstlichen Immunisierung, indem er dem Organismus abgewandelte, nicht pathogene Produkte eingibt, um damit den natürlichen Abwehrmechanismus anzuregen. Sobald erst einmal Antikörper gebildet sind, wäre es denkbar, daß eine weitere Antigenzufuhr nicht mehr erfolgreich sei, da die Antigene beim Eintritt in die Blutbahn durch die vom Körper erzeugten humoralen Reaktionsprodukte abgefangen würden. Man könnte hier durchaus den Vergleich mit dem sogenannten Rückkopplungsmechanismus anführen. Die Stoffe, die eine gewisse Reaktion induziert haben, werden in ihrer Wirkung von den Reaktionsprodukten rückwirkend wieder gebremst. Die immunologische Erfahrung lehrt jedoch, daß entgegen dieser theoretischen Vorstellung, eine fraktionierte Antigenzufuhr stets erfolgreicher ist, als eine einmalige. Aus dieser Beobachtung läßt sich schließen, daß es dem Antigen gelingt, zumindest zeitweise den zellulären Reaktionsprodukten in der Blutbahn zu entgehen. Man kann diesen Vorgang als einen sinnvollen Mechanismus des Organismus auffassen, sich selbst

eine optimale Immunität aufzubauen. Die Grundforderung der Immunologie, möglichst einen Antigendauerreiz zu schaffen, wird teilweise im Organismus schon auf natürliche Weise vorweggenommen.

Wie bereits 1957 ein Jodkreislauf bei Inhalationsversuchen postuliert wurde (99), so wurde auch von SCHIESSLE ein ähnlicher Kreislauf beim Kalzium nach Isotopenversuchen gefordert (100). RAETTIG beobachtete als erster ein ähnliches Verhalten der Antigene im Organismus, die sowohl von den Schleimhäuten resorbiert, als auch über die Schleimhäute sezerniert würden. Diesen Kreislauf nahm er nicht nur für die Lunge, sondern auch für den Magen-Darmtrakt und andere Organe an. So wurde von ihm die Arbeitshypothese aufgestellt, daß jedes Antigen im Körper verschiedene Wege gehen könne, unabhängig vom primären Ort der Antigenzufuhr. Alle Wege würden schließlich über das strömende Blut führen. Es werden drei Möglichkeiten bedacht:

1. Ein Teil wird sofort über Urin und Kot ausgeschieden und geht immunisatorisch verloren.
2. Ein Teil wird von Zellen der biologischen Abwehr abgefangen und spezifisch verarbeitet.
3. Ein Teil des Antigens wird in den oberen Luftwegen ausgeschieden und enteral erneut aufgenommen.

Beim Kreislauf der Antigene handelt es sich also um rhythmisch verlaufende biologische Schwingungen, die durch Resorption und Sekretion der Antigene zunehmend gedämpft werden. Teleologisch betrachtet versucht der Organismus mit diesem Kreislauf einen Antigendauerreiz zu schaffen; da der Reiz durch die zunehmenden Verluste immer schwächer wird,

müßten häufige Wiederauffrischungsimpfungen diese biologischen Schwingungen wieder anregen, was auch experimentell bestätigt werden konnte (86). So zeigt die letzte Diskussionsbemerkung, wie wichtig es ist, bei der Immunisierung das natürliche Infektionsmodell nachzuahmen, da Resorption und Sekretion von Antigenen im Organismus nur dann optimal sein können, wenn möglichst viele Zellen erreicht werden, was bei den parenteralen Impfmethoden, abgesehen von der intravenösen Anwendung, nicht gelingt und da bei den lokalen Methoden primär das zelluläre Abwehrsystem angeregt zu werden scheint. In diesem Zusammenhang soll auch einmal die Terminologie der Impfverfahren betrachtet werden. Wenn man eine Impfmethode beschreiben wollte, ging man meist vom Ort der Antigenapplikation aus. So steht die Bezeichnung "parenteral" der enteralen beziehungsweise oralen Anwendung gegenüber. Letztere erweiterte BESREDKA durch den Begriff der lokalen Immunisierung, wobei er gleichzeitig eine umschriebene lokale gewebliche oder auch eine isolierte Organimmunität postulierte (10). Dieses Postulat erwies sich aber nicht als ausreichend begründet (81). Somit ist der Begriff der "lokalen" Immunisierung leider mit einer unbewiesenen Folgerung belastet worden, obwohl er an sich umfassender und vielseitiger ist als die Bezeichnung "enteral" oder "oral", in der andere mögliche Immunisierungsarten über Schleimhäute oder Cutis nicht mit einbeschlossen sind. So sind bei diesen Bezeichnungen die Impfmethoden über den Respirationstrakt, die Blase oder die äußere Haut nicht mit inbegriffen. Es sind unter anderem auch Vorschläge gemacht worden, die Bezeichnung, "natürliche" und "unnatürliche" Impfmethoden zu

verwenden (88), aber abgesehen davon, daß beispielsweise die Hautskarifikation bei der Pockenimpfung einen natürlichen Vorgang mit nicht ganz natürlichen Mitteln nachahmt, kann auch eine sogenannte "natürliche" Impfmethode sehr unnatürlich werden, wenn man weder Dosierung, Impfrhythmus und Impfzeit ausreichend beachtet. Ausserdem scheint mir das Wort "unnatürlich" insofern unglücklich gewählt, als es geeignet ist, die parenteralen Anwendungsmethoden unwissenschaftlich zu mißkreditieren. Um dieser Schwierigkeit Rechnung zu tragen, wird eine Änderung vorgeschlagen, die vor allem auch der Bedeutung des phylogenetisch älteren Abwehrsystems gerechter wird und gleichzeitig den Ort der Anwendung kennzeichnet. Es erweist sich dabei als zweckmäßig, vom Keimblatt auszugehen. Entsprechend der Antigenzufuhr über das äußere Keimblatt und seine ihm entsproßten Organe, ferner über das innere Keimblatt und seine Anhangsgebilde wird der übergeordnete Begriff "dermale" Impfung vorgeschlagen (Derma = Keimblatt, Haut). Man kann mit diesem Begriff das Wort "lokal" ohne weiteres ersetzen. Entsprechend dem Orte der Anwendung kann man die Bezeichnung bei der Impfung über die Haut und ihre Anhangsgebilde (Drüsen, Haarbälge etc.) in "ektodermal" und bei der Anwendung über die Schleimhäute des Magen-Darm- oder Atmungstraktes in "entodermal" unterteilen. Den sogenannten "unnatürlichen" Impfmethoden, die überwiegend die Organe des mittleren Keimblattes betreffen, bliebe die Bezeichnung "mesodermal" oder in Anlehnung an das Wort "parenteral": "paradermal" = zwischen äußerem und innerem Keimblatt, vorbehalten.

parenteral =	paradermal	"lokal" =	dermal
	(mesodermal)	entodermal	ektodermal
	subcutan	oral	cutan
	intracutan	nasal	vaginal
	intramusculär	tracheal	
	intravenös	bronchial	
	intraperitoneal	rectal	

Tabelle 7. Terminologie der Impfmethoden (mod. nach RAETTIG).

Abschließend soll noch die Frage erörtert werden, ob Beziehungen zwischen dem zuerst von RAETTIG erwähnten Antigenkreislauf und dem phasisch verlaufenden Impfschutz (84) bestehen. Eine so weitreichende Frage läßt sich aus der statistischen Berechnung der Todesrate zweier Tiergruppen allein nicht beantworten. Es müßte hier die Kinetik des bakteriellen Antigens, das heißt Resorptionsmechanismus und Sekretionsmechanismus näher untersucht werden. In Abhängigkeit davon sollte man auch eine Antikörperbestimmung gleichzeitig durchführen. Vor allem müßte eine Versuchsanordnung erdacht werden, die den Vektor des Antigenkreislaufes kennzeichnet und damit die Resorption und Sekretion gemäß seiner Richtung und Reaktionsgeschwindigkeit definiert. Da der Antigenkreislauf mehr den Rhythmus einer frequenten Sinuskurve aufzuweisen scheint (87), der optimale Impfschutz meines Versuches aber über einen Tage-Rhythmus verfügt, sind beide Größen nicht so ohne weiteres zu koordinieren. Jedoch kann man zur Erklärung der Erscheinungen die genetisch verankerte Information der Zelle anführen. So erscheint es zunächst einmal sinnvoll, alle drei beobachteten Erscheinungen, zyklische Infektion, phasischen Impfschutz und

Kreislauf der Antigene, einmal mit der Vorstellung einer zellulär verankerten genetischen Information zu verbinden, womit meine Versuchsergebnisse und besonders die zeitliche Verteilung der Absterbeordnung auf eine endogen wirkende Erscheinung oder ein zelluläres Problem zurückgeführt würden.

Sicherlich spielt beim Ablauf einer Infektion auch die Virulenz eines pathogenen Keimes eine wichtige Rolle. So würden andersartige Infektionsmodelle vielleicht auch eine veränderte Mortalität in zeitlicher Hinsicht aufdecken oder zu einem völlig anderen Kurvenverlauf führen. Wie würde die Todesrate bei einem septischen Krankheitsbild aussehen? Läßt sich auch hier ein phasischer Verlauf nachweisen?
Wenn man nun einen Antigenkreislauf zugrundelegen darf, so wäre damit eine wichtige neue Erkenntnis zur Aufklärung des Wirkungsmechanismus der lokalen, aber auch parenteralen Immunisierungsmethoden gewonnen. Schließlich würden neue Vorstellungen über die Pathogenese von Infektionskrankheiten erforderlich; denn auch ein Krankheitserreger verhält sich wie ein Antigen. Bestehen im Kreislauf der Antigene Unterschiede zwischen inaktiven Vollantigenen, Antigenbruchstücken und pathogenen Keimen? Mit der obenerwähnten Hypothese der genetischen Information der Zelle, als deren Träger die DNS und RNS des Zelleibes gelten, und deren Einfluß mir vorerst als einzige Ursache von biologischen Rhythmen bedeutsam erscheint, verbinde ich auch die Vorstellung einer aktiven, energieverbrauchenden Leistung der Zelle. Können gerichtete Invasionsmechanismen von Krankheitserregern (spreading factor, Kinasen) die autonomen Zellinformationen über-

winden und den Erregern Eingang in die Blutbahn verschaffen, entgegen der zellulären Abwehrleistung des Organismus oder entgegen einem gerichteten Resorptions- und Sekretionsmechanismus? Es sind Bakteriämieversuche beschrieben, nach deren Ergebnissen Tiere, bei denen nach einer Stunde viele Keime und nach fünf Stunden nach immer Keime im strömenden Blut vorhanden sind, schon am 2. oder 3. Tag nach der Infektion sterben, also den Vorgipfel der Mortalität bilden (84). Fehlt diesen Tieren die Fähigkeit, die Krankheitserreger zu inaktivieren und in einen Kreislauf einzuschleusen? Vielleicht läßt sich aus einem zeitlich in bestimmten Abständen vorgenommenen Erregernachweis in der Blutbahn auch eine Prognose hinsichtlich der Überlebenschance stellen. Es erscheinen künftig Versuche zweckmäßig, die eine Keimtitration bei infizierten Tieren mit einbeziehen, um eine Funktionsprüfung der Epithelschranke aufzubauen.

Das Problem Infektabwehr und Antikörpertiter soll kurz erörtert werden, damit der Eindruck der einseitigen zellulären Betrachtungsweise vermieden werde. Es läßt sich an vielen Untersuchungsprotokollen von Voruntersuchern bei der lokalen Immunisierung ablesen, daß der Antikörpertiter nach spezifischer Immunisierung meist ab 3. Tag langsam ansteigt bis zu einem Gipfel und dann eine mehr oder minder lange Continua aufweist, bis er allmählich wieder abfällt entweder bis zum Ausgangswert oder auf ein leicht erhöhtes Niveau. Nach Wiederimpfung zeigt sich die gleiche serologische Reaktion, nur waren häufig sprunghaft ansteigende Titer zu beobachten, die mit dem sogenannten "booster-Effekt" erklärt wurden. Ein signifikant auftretender phasischer Verlauf

der Titerhöhe ist meines Wissens bisher noch nicht beschrieben worden. Die meist vorliegende Continua des Antikörperspiegels oder sein Anstieg haben sicher dazu beigetragen, eine weitgehend kontinuierliche Immunität, zumindest solange ein Antigenreiz bestand, als bewiesen anzusehen. Dagegen sprechen die Resultate der vorliegenden Arbeit und die Ergebnisse im jüngsten Schrifttum (84). Die Infektionsbelastung beweist vorerst allein den direkten Impfschutz. Es ist daher erstaunlich, weshalb man sich mehr als ein halbes Jahrhundert fast nur mit dem Nachweis indirekter Zeichen, wie es ja die Antikörper sind, begnügte, zumal bereits 1920 CALMETTE die Frage aufgeworfen hatte, ob man nicht die Antikörper eher als Zeugen zellulärer Reaktionen gegen die von den pathogenen Keimen ausgeschiedenen Giftprodukte anzusehen habe (20). Ohne mit dem letzten Zitat aus der Literatur ein Ergebnis präjudizieren zu wollen, erscheint mir gerade dieses Problem noch so ungeklärt, daß eine vermehrte Aufmerksamkeit in entsprechenden Versuchen gerechtfertigt ist.

In der Einleitung sprach ich von einem geschichtlich begründeten Dualismus zweier Schulsysteme bei der Bearbeitung immunologischer Fragen, wobei überwiegend deutsche Autoren den einen Teil und überwiegend französische den anderen Teil repräsentierten. Da kaum die Gefahr besteht, daß das Pendel zu Gunsten einer zellulären Betrachtungsweise ausschließlich auf die andere Seite schlägt, so sollte man doch erst recht, den so lange vernachlässigten zellulären Aspekt der Immunität entsprechend seiner biologischen Wertigkeit und seiner onto- und phylogenetischen Bedeutung würdigen, zumal das entwicklungsgeschichtlich alte System noch wenig erforscht ist.

Sobald seine Kenntnis verbessert und vertieft worden ist, erscheint auch die Aufgabe wesentlich leichter, eine Synthese des Dualismus zu schaffen, die umso dringender zu fordern ist, als der gesunde Organismus stets als Einheit und in seiner Reaktion nie allein alternierend mit einem der beiden Abwehrsysteme reagiert.

ZUSAMMENFASSUNG

1. Die Mortalität der weißen Maus nach oraler Infektion mit S. typhi murium-Bakterien kann durch eine spezifische Inhalationsimmunisierung mit hitzeinaktiviertem Vollantigen bei konstantem Impfrhythmus und gleichbleibendem Infektionstermin statistisch signifikant gesenkt werden.
2. Wenn der Zeitabstand der Infektion zu der Impfung geändert wurde, so ließ sich der beste Impfschutz in einem Zeitraum um den 10. Tag nach letzter Inhalation nachweisen. Die übrigen Infektionstermine ergaben einen Wert, der noch im Bereich der Zufallsstreuung lag.
3. Die bereits in der Literatur erwähnten periodischen Schwankungen im Impfschutz und die zyklische Infektion konnten nach einer seuchenstatistischen Analyse der Versuche bestätigt werden und wurden in der Diskussion zu dem von RAETTIG (87) beschriebenen Kreislauf der Antigene in Beziehung gebracht.
4. Die positiven Ergebnisse der "lokalen" Inhalationsimpfung lassen die Methode auch in Zukunft wegweisend erscheinen. In diesem Zusammenhang wird eine neue Terminologie der Impfmethoden vorgeschlagen, entsprechend der phylo- und ontogenetischen Bedeutung des entwicklungsgeschichtlich primären zellulären Abwehrsystems.

SCHRIFTTUM

1) DE ALESSI, E.: Vaccinazione antitifica per inalazione. Giorn. Med. mil. 84, 114 (1936). Zit. bei RAETTIG (81).

2) ALEXANDROW, N.I., N.E. GEFEN, N.S. GARIN, K.G. GAPOTSCHKO, I.I. DAALBERG u. W.M. SERGEJEW: Empfänglichkeit für aerogene Vakzinierung gegen bestimmte Zoonosen und Wirksamkeit des Verfahrens. Wojenno-Medizinskij Shurnal 34 - 38 (1958); zit. b. BISA und PETRAS (11).

3) ALEXANDROW, N.I. GEFEN, N.S. GARIN, K.G. GAPOTSCHKO, W.M. SERGEJEW, M.S. MIRNOW, A.L. TAMARIN u. E.N. SCHLIACHOW: Versuch zur aerogenen Massenvakzinierung von Menschen gegen Anthrax. Wojenno-Medizinskij Shurnal 27 - 32 (1959); zit. b. BISA u. PETRAS (11).

4) BARANDUN, S.: Das Antikörpermangelsyndrom des Erwachsenen. Mitteilungen Behringwerke 9, 346 (1965).

5) BARLOW u. BURNELL (1925); zit. b. MIZUTANI (69).

6) VON BEHRING, E.: Zit. b. RAETTIG (81).

7) BENDERSKAJA, A. u. PODBORITZ, J.: Zur Frage über die Schutzimpfung von Kindern seitens der Nasen- u. Nasopharyngealschleimhaut gegen Diphtherie mit Ramon-Anatoxin. Zbl. f. Bakt., Ref. 98, 256 (1930).

8) BESREDKA, A.: De l'action des sérums par la voie respiratoire. Ann. de l'institut Pasteur 34, 51 (1920).

9) -- Infection et vaccination par voie trachéale. Ann. Inst. Pasteur 34, 361 (1920)

10) -- Die lokale Immunisierung. (Deutsche Übersetzung von G. BLUMENTHAL) Leipzig 1926.

11) BISA, K. u. E. PETRAS: Lufthygiene - ein Aerosolproblem. Zbl. Aerosol-Forsch. u. -Therapie 2, 99 (1963).

12) BLUMENAU, N.R.: Über aktive Immunisierung von Kindern gegen Diphtherie nach der Methode von DZERZGOWSKY. Zbl. f. Bakt. Ref. 49, 645 (1911).

13) BLUMENTHAL, PH.: Beitrag zur Frage der Diphtherieantitoxingewinnung. Berl. klin. Wschr. S. 1229 (1908).

14) BOLOTOVSKII, V.M.: I. Theory of work of the IBK-1 aerosol chamber for the study of experimental respiratory infections. - II. Evaluation of aerosol from certain physical parameters. Problems of Virology 6, 492 u. 497 (1961).

15) BROCQU-ROUSSEAU et URBAIN: De la réceptivité pulmonaire à l'infection charbonneuse chez le lapin et le cobaye. C.r.Soc. Biol. 90, 4 (1924).

16) BUCKLAND, F. et al.: Nature London 166, 354 (1952); zit b. BOLOTOVSKII (14).

17) BUCHNER: Zit. b. RAETTIG (81)

18) BURNET, F.M.: Antikörper und Immunität. Med. Prisma, Mitteilungen Boehringer Ingelheim, 1 (1965).

19) BUSSON, B.: Über Eiweißanaphylaxie von den Luftwegen aus. Wien. klin. Wschr. 1492 (1911).

20) CALMETTE: L'infection bacillaire et la tuberculose chez l'homme et les animaux. MASSON, 1920, p. 509; zit. b. BESREDKA (9)

21) CORNET und FRÄNKEL: Die Tuberculose. Wien 1900 S. 558.

22) CVJETANOVIC, B.: Wirksamkeit von parenteralen Vakzinen gegen enterale Infektionen (Typhus, Paratyphus). Mitteilungen Behringwerke 8, 273 (1964).

23) DAUTREBANDE, L.: Aerosole aus flüssigen Medien. Zschr. Aerosolforsch. - Therap. 2, 117 (1954).

24) -- L'Aerosologie. V. BAILLIERE et Fils, Paris 1951.

25) DIMMNICK, R.L.: Messung des physikalischen Verlustes von Aerosolen durch eine Lichtbrechungsmethode im Vergleich zu einer Methode mit radioaktiver Kennzeichnung. J. Hyg. 58, 373 - 379 (1960).

26) DICK, G.W.A.: Der Wert oral verabreichter Poliomyelitis-vaccinen. Triangel, Mitteilungen Sandoz 8, 346 (1963).

27) DIRNAGL, K. u. H. PICHLMAIER: Untersuchungen über den Einfluß der Atemtechnik auf die Resorption inhalierter Substanzen. Zschr. Aerosolforsch. u. -Therap. 2, 240 (19

28) -- u. H. WELCHER: Untersuchungen über den Einfluß der Tröpfchengröße auf die Resorption inhalierter Nebel. Zschr. Aerosolforsch. u. -Therapie 4, 289 (1955).

29) DOSTAL, V.: Problematik der Schutzimpfung bei Poliomyeli Therap. Umschau 3, 112 (1961); zit. in "Pro medico", 9, 528 (1961).

30) DUVAL, CH.W. and D'AUNOY, RIGNEY: Studies upon experimen measles. J. of. exper. M. 36, 239 (1922).

31) DZERZGOWSKY, S.K.: Über die aktive Immunisierung des Men schen gegen Diphtherie. Zschr. f. Imm. Ref. 3, 602 (1910

32) EGUCHI, CH.: Versuche über Infektion und Immunisierung junger und alter Mäuse und Meerschweinchen mit Pneumo-kokken und Streptokokken durch Fütterung und Inhalation. Zschr. f. Hyg. u. Inf. 105, 74 (1926).

33) EHRLICH, P.: Experimentelle Untersuchungen über Immunität Dtsch. med. Wschr. 976 u. 1218 (1891).

34) -- Historisches zur Frage der Immunisierung "per os". Wien. klin. Wschr. 652 (1908).

35) EPSTEIN, ST.: Les tests sérologiques de la vaccination "per os". Rev. Med. 55, 504 (1938).

36) FALK, W,J. KOCH u. E. ROSSIPAL: Beiträge zur Klinik und Therapie der kongenitalen Form des Antikörpermangelsyndroms. Wien. klin. Wschr. 2, 35 - 37 (1964).

37) FERRY, R.M., L.E. FAHR, M.G. HARTMAN: Herstellung und Bestimmung der Konzentration der verdünnten Aerosole. Chem. Rev. 44, 389 (1947).

38) FICKER: Arch. f. Hyg. 50 (1905) zit. b. MIZUTANI (69).

39) FRITZSCHE, K.: Die Anwendung von Sprays und Aerosolen bei der Therapie und Prophylaxe der Geflügelkrankheiten. Zbl. Biol. Aerosol-Forsch. u. -Therapie 9, 3 - 4: 220 - 235 (1960/61).

40) FUCHS, E.: Spezifische Desensibilisierung mit Inhalationsantigenen. Internist 12, 732 (1962).

41) GERMANO, E.: Die Übertragung von Infektionskrankheiten durch die Luft. Zschr. Hyg. 24, 25, 26 (1897).

42) HENNEBERG, G.: Aktive Schutzimpfungen und ihre Grundlagen. Dr. G. LÜTTKE , Berlin 1960.

43) HEUBNER, W.: Über die Inhalation zerstäubter Flüssigkeiten. Zschr. ges. exp. Med. 10, 229 (1920).

44) -- Grenzen der Aerosoltherapie. Zschr. f. Aerosolforsch. u. -Therap. 5, 553 (1953).

45) HITZIG, W.H.: Hereditäre Formen zellulärer und humoraler Abwehrschwäche im Kindesalter. Mitteilungen Behringwerke 9, 334 (1965).

46) HOEFLMAYR, J.: Inhalationstherapie mit Bakteriophagen bei therapieresistenten Infektionen. Fortschritte Aerosolforsch. 1957 - 61 V. SCHATTAUER, Stuttgart 1962.

47) HOFFMANN: Resorptionsvirämie nach oraler, trachealer und rektaler Gabe des T_3-Phagen und die Bedeutung der Polyelektrolyte für ihr Zustandekommen. Zbl. f. Bakt. I. Orig. Im (Druck

48) HOSMER - ZAMBELLI, F.: Parallelo fra l'immunizzazione ottenuta nelle cavie mediante anatossina difterica per via nasale e parenterale. Zbl. f. Bakt. Ref. 102, 543 (1931).

49) ISABOLINSKI, M.P. u. KARPATSCHEWSKAJA, B.P.: Über neue Anatoxineinverleibungsmethoden zwecks aktiver Immunisierung gegen Diphtherie. Zbl. f. Bakt. I. Orig. 119, 84 (1930).

50) ISHIYAMA: Mansku Igakkai Zasshi, 21, 297 (1934); zit. b. MIZUTANI (69).

51) JONES, F.S., LITTLE, R.B.: An epidemiological study of rhinitis (coryza) in calves with special reference to pneumonia. J. of exper. M. 36, 273 (1922).

52) KAPRALIK, E. und H. v. SCHROETTER: Erfahrungen über die Wirkung der Einführung von Tuberkulin im Wege des Respirationsapparates. Wien. klin. Wschr. 583 - 590 (1904).

53) KOCH, FR.: Prophylaxe und Therapie des Antikörpermangelsyndroms. Informationen Behringwerke 9, 355 (1965).

54) KOLLER, S.: Graph. Tafeln z. Beurteilung statist. Zahlen. V. STEINKOPP, Dresden u. Leipzig 1940.

55) KORNGOLD, L.: J. Immunology 70, 345 (1953); zit. b. LODENKÄMPER (58).

56) LANGE, KESCHISCHIAN: Experimentelle Untersuchungen über die Bedeutung der Tröpfcheninfektion bei der Tuberkulose. Zschr. f. Hyg. u. Inf. 104, 256 (1925).

57) -- u. NOWOSELSKY: Experimentelle Untersuchungen über die Bedeutung der Staubinfektion bei der Tuberkulose. Zschr. f. Hyg. u. Inf. 104, 286 (1925).

58) LODENKÄMPER, H.: Über das Problem der oralen Immunisierung. Wien. Med. Wschr. 48, 860 (1964).

59) LOO VAN DE, J.: Über die Lokalisation der Antikörperbildung nach aerogener Immunisier. Virch. Arch. path. Anat.

60) LÜ, F.: Über die Beeinflussung des Organismus durch intrapulmonale Farbstoff- und Fettinjektionen. Zschr. exp. Med. 94, 269 (1934).

61) MARTINI, H.: Richtlinien zur Aerosolbehandlung. Dtsch. med. Wschr. 78, 45: 1543 (1953).

62) MATSUDA: Chiba Igakkai Zasshi 1223 (1929); zit. b. MIZUTANI (69).

63) MATSUMOTO, S. u. A. MIZUTANI: Untersuchung über die Resorption von Substanzen durch Haut und Schleimhaut. Acta dermat. (Kyoto) 24, 103 (1934).

64) -- Studien über die Resorption durch Haut und Schleimhaut. Acta dermat. (Kyoto) 24, 70 (1934).

65) -- u. SAITO, S.: Untersuchung über die Resorption von Substanzen durch Haut und Schleimhaut. - Passive Immunisierung gegen Diphtherie durch Einführung des Antitoxins mittels Inhalation. Acta dermat. (Kyoto). 24, 105 (1934).

66) -- Untersuchung über Resorption von Substanzen durch Haut und Schleimhaut. Immunisierung mittels Inhalation von Vakzinen. Acta dermat. (Kyoto) 25, 94 (1935).

67) MEWES: Tierversuche mit radiomarkierten S. typhi murium-Bakterien zur Untersuchung der Resorption u. Verteilung im Organismus der weißen Maus. In Vorbereitung.

68) MIDDLEBROOK, G.: Immunological aspects of air-born infection. Reactions to inhaled antigens. Bact. Rev. 25, 331-346 (1961).

69) MIZUTANI, A.: Experimental studies on immunization through respiration. Acta dermat. (Kyoto) 26, 93 (1935)

70) MONMIGNANT, LESNE et MARQUEZY: De l'immunisation antidiph-

thérique par voie nasale chez l'infant. Zbl. f. Bakt. Ref. 87, 107 (1927).

71) NEZELOF: Zit. b. HITZIG, W.H. (37)

72) NÜCKEL, H.: Drei allgemeine Grundregeln der Aerosoltherapie. Zschr. f. Aerosolforsch. u. -Therap. 1, 141 (1952).

73). -- Indikationen zur Aerosoltherapie. Dtsch. med. J. 4, 9/12: 236 (1953).

74) -- Die Aerosologie. Zschr. Aerosolforsch. u. -Therap. 1, 8 (1952).

75) ORTMANN, H.: Ein Beitrag zur Therapie mit Aerosolen. Ärztl. Wschr. 8, 37: 884 (1953).

76) PFEIFFER: Zit. b. RAETTIG (81).

77) PFENNINGER, W.: De l'importance de la voie respiratoire dans la production des anticorps. Ann. Inst. Pasteur 35, 237 (1921).

78) PRITCHETT, J.W.: Journ. exp. Med. 41, 209 (1925); zit. b. RAETTIG (84).

79) RAETTIG, H.: Die Seuchenkurve. Arch. f. Hyg. 144, 159 (196

80) -- Tierexperimente zur oralen Immunisierung mit inaktiviertem Antigen. (Vorläufige Mitteilung) Zbl. f. Bakt. I. Orig. 182, 525 (1961).

81) -- Die lokale Immunisierung mit inaktiviertem Antigen gegen bakterielle Darminfektionen (Typhus, Paratyphus, Cholera, Ruhr). Zbl. f. Bakt. I. Ref. 183, 427 - 480 (1962).

82) -- Tierexperimente zur Durchlässigkeit des Intestinaltraktes für Virus. Zbl. f. Bakt. I. Orig. 191, 97 (1963).

83) -- Provokation einer Infektion durch Schutzimpfung. Zbl. f. Bakt. I. Orig. 193, 249 - 271 (1964).

84) RAETTIG, H.: Orale Immunisierung mit nichtvermehrungsfähigen Mikroorganismen oder ihren Antigenen. Zbl. f. Bakt. I. Orig. 193, 398 - 410 (1964).

85) -- Die Wirksamkeit der oralen Immunisierung gegen Typhus und Paratyphus. Mitteilungen Behringwerke 8, 279 (1964).

86) -- Der Einfluß von Impfdosis und Impfabstand auf die Wirksamkeit der oralen Impfung im Tierversuch. Berliner Mikrobiol. Ges. Sitzung v. 21.12.1965.

87) -- Neues zur Wirkungsweise der oralen Immunisierung. Wien. med. Wschr. 115, 33 - 38 (1965).

88) -- Die Terminologie der lokalen Immunisierung. Berliner Mikrobiol. Ges. Sitzung v. 21.12.1965.

89) RAMON, G. et CH. ZOELLER.: De l'immunisation antitoxique par voie nasale chez l'homme et du mécanisme de l'immunisation occulte. C.r.Soc. de Biol. 96, 757 (1927) et Presse méd. 391 (1927).

90) RAUCH, G.: Zur Frage der Inhalationsimmunisierung mit B.C.G.-Aerosol. (Vorläufige Mitteilung) Zschr. f. Aerosolforsch.- u. -Therap. 2, 406 (1953).

91) REIN, H.: Einführung in die Physiologie des Menschen, A XIII, SPRINGER, Berlin 1960.

92) ROESSLE, R.: Die Bedeutung von Transplantationsversuchen für die Entzündungslehre. Zbl. f. Path. 33, 365 (1923) Festschrift.

93) -- Die konstitutionelle Seite des Entzündungsproblems. Schweiz. med. Wschr. 46 (1923).

94) ROSEBURY, T.: Experimental air-born infektion. Baltimore 1947; zit. b. BOLOTOVSKII (14).

95) RUSCH, H.P. u. H. KOLB: Verneblungstherapie mit Lebendvakzinen u. ihre Erfolge. Hippokrates 23, 2: 42 (1952).

96) -- Inhalationstherapie mit Lebendvakzinen bei Erkrankungen der Luftwege u. deren Folgen. Wien. med. Wschr. 102, 372 (1952).

97) SAFFRAN, E.: Orale Immunisierung von Mäusen mit S. blockley, S. newport, S. schwarzengrund und S. heidelberg. In Vorbereitung.

98) SANARELLI, G.: Sur les vaccinations par voie nasale, Zbl. Bakt. Ref. 79, 344 (1925).

99) SCHIESSLE, W.: Tierexperimentelle Untersuchungen zur Verteilung von radioaktivem Phosphor (P^{32}), Jod (J^{131}) u. Zirkonium (Zr^{95}) im Atemtrakt u. in lungenfernen Organen nach Inhalation. Zschr. Aerosolforsch. u. -Therapie 2, 104 (1957).

100) SCHIESSLE, W., I. SCHMIDTKE, K. PHILIPP u. E. SCHROFF: Inhalationsuntersuchungen mit radioaktivem Calcium (Ca^{45}) beim Meerschweinchen. Zbl. Biol. Aerosolforsch. u. -Therapie 11, 373 (1963/64).

101) -- Über die Vorgänge bei der Inhalation von Aerosolen in der normalen Lunge. Zschr. Aerosolforsch. u. -Therapie 1 - 2, 364 (1952/53).

102) -- u. STEINER, H.: Geschichte der Bakterieninhalation. Zbl. Biol. Aerosolforsch. u. -Therap. 4. 304 (1962

103) -- -- Geschichte der Tröpfcheninhalation I. Zbl. Biol. Aerosolforsch. u. -Therap. 5, 365 (1960/61).

104) -- -- Geschichte der Tröpfcheninhalation II. Zbl. Biol. Aerosolforsch. u. -Therap. 6, 468 (1960/61).

105) SCHEWELEFF, P.P.: Zur Frage der aktiven Immunisierung gegen Diphtherie durch die Luftwege. Zbl. f. Bakt. Ref. 49, 648 (1911).

106) SCHULZ, H. u. A. EVERS: Über Rauminhalation. Münch. med. Wschr. 11, 431 (1936).

107) SEEMANN: Zieglers Beiträge 74, 345 (1923); zit. b. SCHIESSLE (101)

108) SEGRE, R.: La vaccinazione antidifterica per via nasale et parenterale. Zbl. f. Bakt. Ref. 101, 210 (1931).

109) SEHRWALD, E.: Über die percutane Injektion von Flüssigkeiten in die Trachea, deren Verbreitung in der Lunge und Wirkung auf Lunge und Gesamtorganismus. Dtsch. Arch. klin. Med. 39, 162 (1887).

110) SILBERSCHMIDT, W.: Immunisierungsversuche mittels Inhalation. Schweiz. med. Wschr. 548 - 551 (1934).

111) -- Immunisierung durch Inhalation. Schweiz. med. Wschr. 1089 - 1090 (1934).

112) -- Essais d'immunisation par inhalation. I. Diphthérie et Tétanos. Ann. de l'Inst. Pasteur 52,690 (1934)

113) STEHR,K.: Die Bedeutung der Phagocytose für die Infektionsabwehr. Naturwiss. u. Med. Mitteilungen Boehringer Mannheim 8, 57 (1965)

114) STIEVE, F.E.: Über Gewebswirkung öliger Substanzen bei Tiefeninhalation. Zschr. Aerosolforsch. u. -Therap. 1, 86 (1952)

115) -- Zur Dosierung und Verträglichkeit der Aerosoltherapie. Dtsch. med. J. 4, 15/16: 397 (1953).

116) STILLMAN, E.: The presence of bacteria in the lungs of mice following inhalation. J. of exper. M. 38, 117 (1923).

117) TOPLEY, W.W.C.: Lancet 1926, I, 531; zit. b. RAETTIG (84).

118) TSCHOEPE, M.: Vergleichende lokale Immunisierung mit inaktivierten S. typhi murium-Bakterien unter Einfluß von Dimethylsulfoxyd (DMSO). In Vorbereitung.

119) VEDOVA DELLA, A.: Saggi "in vivo" sulla resistenza della mucosa nasale verso la tossina difterica. Zbl. f. Bakt. Ref. 113, 539 (1934).

120) VOLKHEIMER, G.: Dtsch. Ges.wesen 15, 1298 (1960); zit. b. LODENKÄMPER (58).

121) WALSH, TH.E., P.R. CANNON: Immunization of the respiratory tract. J. of Immun. 35, 31 (1938).

122) WOLTERS: Über die Bedeutung der Aerosole für die Immunbiologie. Zschr. f. Aerosolforsch. u. -Therap. 1, 22 (1952).

Zum Schluß möchte ich Herrn Prof. Dr. med. H. Raettig für die freundliche Überlassung des Themas danken und für die Möglichkeit der tierexperimentellen Untersuchungen mit den Einrichtungen, Versuchstieren und Materialien an der Abteilung für Bakteriologie und Seuchenlehre des Robert Koch-Institutes.

LEBENSLAUF

Am 24.11.1934 wurde ich, Gunter Marwik, in Berlin-Spandau geboren und besuchte dort zuerst eine Grundschule und danach das Humanistische Gymnasium. Reifeprüfung und anschließend Immatrikulation an der Medizinischen Fakultät der FU in Berlin erfolgten in der ersten Jahreshälfte 1955. Zehn Semester Medizinstudium in Berlin und ein Semester in Frankfurt am Main schlossen sich an. Das Staatsexamen legte ich im Frühjahr 1961 an der FU in Berlin ab. Als Medizinalassistent wurde ich in den Pflichtfächern am Westendkrankenhaus (Chirurgie), am Städtischen Krankenhaus Spandau (Innere Medizin, Gynäkologie und Geburtshilfe) und an der Landesnervenklinik in Spandau (Neurologie) ausgebildet. Nach meiner Approbation am 31.3.1963 arbeitete ich als Assistenzarzt zwanzig Monate auf einer neurologischen Station in der Landesnervenklinik in Spandau und und setzte meine Ausbildung in dem Fach Radiologie und Nuklearmedizin im Städtischen Krankenhaus in Spandau fort, wo ich jetzt noch tätig bin.